

**PENGARUH PEMBERIAN PLATELET RICH PLASMA PADA
TINDAKAN MICROGRAFTING TERHADAP PROSES
EPITELISASI**



Oleh :
Regine Viona

Pembimbing :
dr. Herman Yosef Limpat Wihastyoko, SpBP-RE(K)

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2016

**PENGARUH PEMBERIAN PLATELET RICH PLASMA PADA
TINDAKAN MICROGRAFTING TERHADAP PROSES
EPITELISASI**



Oleh :
Regine Viona

Pembimbing :

dr. Herman Yosef Limpat Wihastyoko, SpBP-RE(K)

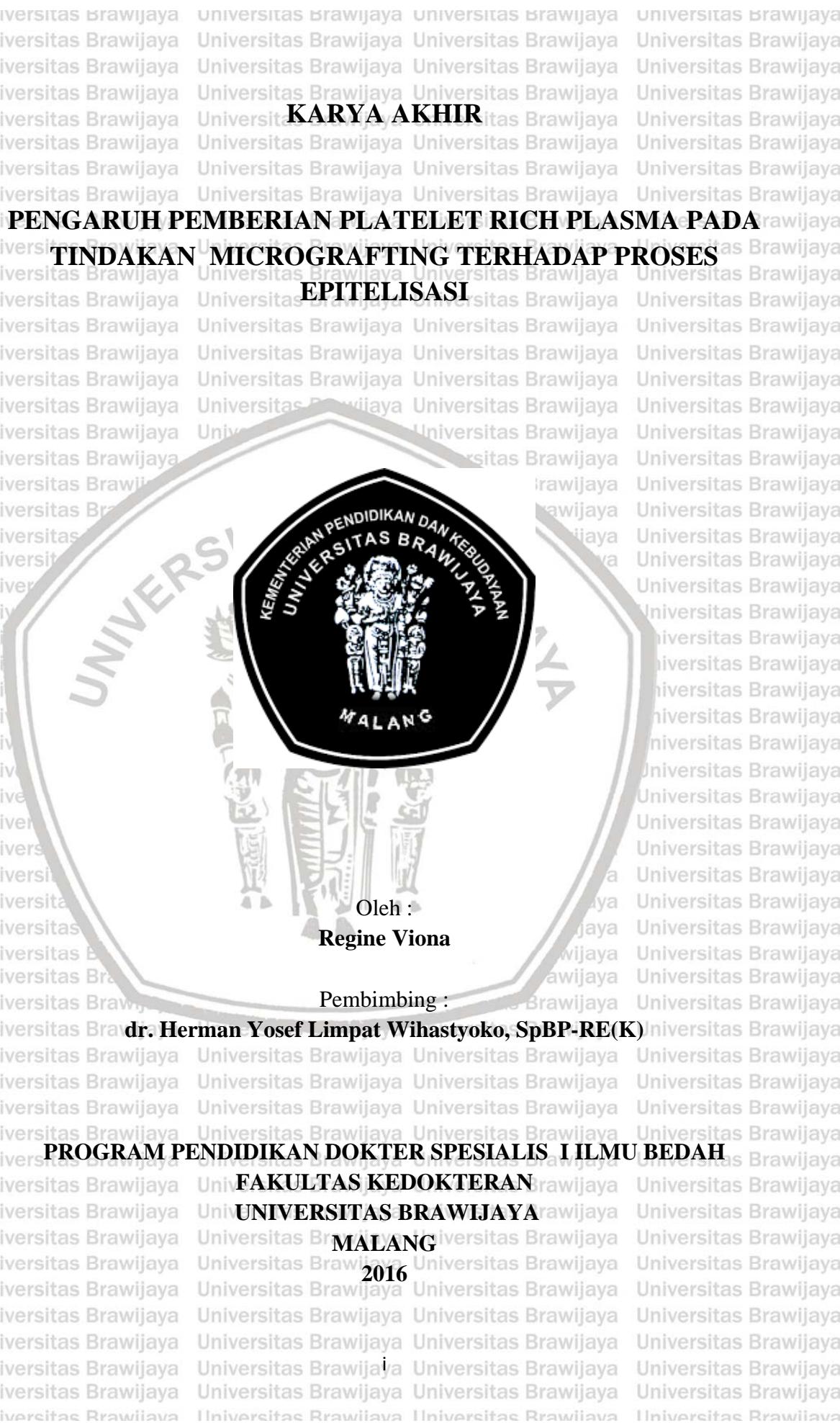
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU BEDAH

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016



**PENGARUH PEMBERIAN PLATELET RICH PLASMA PADA
TINDAKAN MICROGRAFTING TERHADAP PROSES
EPITELISASI**

KARYA AKHIR

**Sebagai Prasyarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Bedah**

Oleh :

REGINE VIONA

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU BEDAH

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016



LEMBAR PENGESAHAN

KARYA AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN PLATELET RICH PLASMA PADA TINDAKAN MICROGRAFTING TERHADAP PROSES EPITELIASI

Telah disetujui pada tanggal 6 September 2016

Oleh
Pembimbing

dr. Herman Yosef Limpat Wihastyoko, SpBP-RE(K)

NIP. 19690408 199803 1 013

Mengetahui,

KPS PPDS-I Ilmu Bedah

Dr. Julik Inggarwati, SpB, SpBA(K)

Universitas Brawijaya Universitas

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjangkan bagi Tuhan YME yang telah memberi petunjuk dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Platelet Rich Plasma Pada Tindakan Micrografting Terhadap Proses Epitelisasi”. Saya menyadari sepenuhnya tanpa dukungan, dorongan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, karya akhir ini tidak akan selesai. Saya menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dr.Herman Yosef Limpat W,SpBP-RE(K) sebagai pembimbing karya akhir yang penuh perhatian dan memberi semangat kepada saya untuk bisa menyelesaikan karya akhir dengan baik.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada yang terhormat:

1. Rektor Universitas Brawijaya Prof. Dr. Ir. Mohammad Bisri, M.S., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS-I Ilmu Bedah.
2. Dekan Universitas Brawijaya Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS-I Ilmu Bedah.
3. Direktur RSUD dr. Saiful Anwar Malang dr. Restu Kurniatjahjani, M.Kes., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan PPDS-I Ilmu Bedah.
4. Ketua TKP PPDS-I dr.Eko Ari S, SpS yang telah banyak membantu selama pendidikan spesialis ini.
5. Kepala Laboratorium Ilmu Bedah FKUB/ Kepala SMF Ilmu Bedah RSUD dr. Saiful Anwar Malang dr.JDP Wisnubroto, SpB(K)Onk atas segala bimbingannya selama saya menempuh pendidikan spesialis ini.
6. Ketua Program Studi PPDS-I Ilmu Bedah dr.Lulik Inggarwati, SpB, SpBA(K) yang dengan sabar dan penuh perhatian selalu memberikan

- bimbingan dan dukungan yang tak terhingga kepada saya selama pendidikan.
7. Sekretaris Program Studi PPDS-I Ilmu Bedah dr.Hery Susilo, SpB(K)Onk yang telah banyak memberikan semangat dan masukan untuk menyelesaikan pendidikan ini.
8. Dr.Ir. H. Solimun, MS sebagai pembimbing statistik, yang dengan sabar membimbing saya dan selalu meluangkan waktu untuk berkonsultasi.
9. Seluruh staff pengajar di SMF / Laboratorium Ilmu Bedah Umum atas segala pengorbanan, bimbingan, motivasi, ilmu dan pengalaman yang telah diberikan kepada saya selama menjalani pendidikan.
10. Para petugas laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr.Saiful Anwar dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.
11. Teman-teman PPDS-I “Glathi Landep” Ilmu Bedah FKUB yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Karya Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh

karenanya penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Semoga penelitian ini bermanfaat dan semoga Tuhan YME selalu melimpahkan rahmat dan perlindungannya kepada kita semua. Amin

Malang, September 2016

Regine Viona

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN PLATELET RICH PLASMA PADA TINDAKAN

MICROGRAFTING TERHADAP PROSES EPITELISASI

Regine Viona¹, Herman Yosef Limpat W.²

Kedokteran Universitas Brawijaya – RSUD Saiful Anwar, Malang, Indonesia

Juff Kosultan Bedah Plastik-Rekonstruksi – Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

²Staff Konsultan Bedah Plastik-Rekonstruksi – Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya –

Latar Belakang: Proses penyembuhan luka bakar saat ini menjadi kajian utama . Beban kesakitan dan kecacatan mendorong penanganan luka bakar yang lebih efektif, salah satunya dengan tindakan micrografting. Penggunaan *Platelet Rich Plasma (PRP)* pada tindakan *micrografting* mengoptimalkan penyembuhan luka bakar.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental klinis *post test only control group*. Pada 9 pasien luka bakar yang dilakukan tindakan micrografting diberikan 2 macam perlakuan, pada separuh luasan diberikan *PRP* dan pada separuh luasan lainnya tidak diberikan *PRP*. Penilaian epitelisasi diukur dengan secara histologi: makrofag, fibroblas dan kolagen; secara klinis berupa kategori dan *graft take*.

Hasil: Terdapat peningkatan rerata makrofag (dengan *PRP* sebesar 11,222 dan *NON PRP* sebesar 4,111), fibroblas (kelompok *PRP* sebesar 16,444 dan *NON PRP* sebesar 6,556) dan kolagen (kelompok *PRP* sebesar 6,778 dan *NON PRP* sebesar 1,994) dengan $p<0,05$. Pada variabel klinis pengamatan hari ke 5 diperoleh nilai Wilcoxon sebesar -2,236 ($p=0,025$) sedangkan pengamatan hari ke 10 diperoleh nilai Wilcoxon sebesar -2,000 ($p=0,046$). Didapatkan juga peningkatan rerata *graft take* pada kelompok *PRP* sebesar 82,222 dan *NON PRP* sebesar 72,778 ($p=0,001$). Pemberian *PRP* pada tindakan *micrografting* menunjukkan perbedaan yang signifikan secara histologi dan klinis.

Kesimpulan: Pemberian *Platelet Rich Plasma* dapat mengoptimalkan proses penyembuhan luka melalui peningkatan makrofag, fibroblas, kolagen yang mempercepat terjadinya epitelisasi.

Kata kunci: micrografting, platelet rich plasma, makrofag, fibroblas, kolagen, epitelisasi, graft take

ABSTRACT**EFFICACY OF PLATELET RICH PLASMA ON MICROGRAFTING TOWARDS EPITHELIZATION PROCESS**

Regine Viona¹, Herman Yosef Limpat W.²

¹ *General Surgery Resident of Brawijaya University, Faculty of Medicine, Saiful Anwar General Hospital, Malang, Indonesia*

² *Plastic and Reconstructive Surgery Consultant of Brawijaya University, Faculty of Medicine, Saiful Anwar General Hospital, Malang, Indonesia*

Objectives: Wound healing process especially for burn injury had been talked about recently, pain burden and disability of burn injury encouraged for an effective treatment, one of the treatment include micrografting. The application of Platelet Rich Plasma on micrografting are able to speed up wound healing in burn injury.

Methods: This study is a clinical experimental study, post test only control group. Nine patients with burn injury who underwent micrografting are treated in two different manner, first half of total area covered with micrografting are given platelet rich plasma, while the other half are left as it is. Epithelization are measured histologically by the appearance of macrophage, fibroblast and collagen; clinically and graft take.

Results: Significant increased $p<0,05$ on histology appearance; macrophage in platelet rich plasma group are 11.222 and 4,111 in non platelet rich plasma group; fibroblast in platelet rich plasma group are 16,444 and 6,556 in non platelet rich plasma group respectively; and collagen in platelet rich plasma group account for 6,778 and 1,994 in non platelet rich plasma group. The result on clinical evaluation on the 5th and 10th days are -2,236 ($p=0,025$) and -2,000 ($p=0,046$) respectively. Graft take are also increasing significantly in platelet rich plasma group with 82,222 and non platelet rich plasma group 72,778 ($p=0,001$). The application of Platelet Rich Plasma on micrografting demonstrated a significant difference on histologically and clinically.

Conclusion: Platelet rich plasma are efficacious towards wound healing process through increasing of macrophage, fibroblast and collagen that can speed up epithelization.

Keywords: *micrografting, platelet rich plasma, macrophage, fibroblast, collagen, epithelization, graft take*

Sampul dalam	DAFTAR ISI
Prasyarat Gelar	ii	
Lembar Pengesahan	iii	
Kata Pengantar	iv	
Abstrak	vi	
Abstract	vii	
DAFTAR ISI	xiii	
DAFTAR TABEL	xiv	
DAFTAR GAMBAR	xv	
DAFTAR SINGKATAN	xvi	
DAFTAR LAMPIRAN	xvii	
BAB 1 PENDAHULUAN	1	
1.1 Latar Belakang	1	
1.2 Rumusan Masalah	4	
1.3 Tujuan Penelitian	4	
1.3.1 Tujuan Umum	4	
1.3.2 Tujuan Khusus	5	
1.4 Manfaat Penelitian	5	
1.4.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan	5	

1.4.2 Manfaat Bagi Pelayanan Kesehatan	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Micrografting	6
2.2 Platelet	17
2.3 Platelet Rich Plasma dan Penyembuhan lukaas.....	24
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ..	31
3.1 Diagram Kerangka Konseptual	31
3.2 Hipotesis Penelitian	33
BAB 4 METODE PENELITIAN ..	34
4.1 Jenis Penelitian	34
4.2 Sampel	34
4.3 Kriteria Inklusi dan Eklusi	35
4.3.1 Kriteria Inklusi	35
4.3.2 Kriteria Eklusi	35
4.4 Variabel	35
4.4.1 Variabel Bebas	35
4.4.2 Variabel Tergantung	35
4.4.3 Variabel Kendali	36

4.5 Definisi Operasional Variabel	36
4.5.1 Platelet Rich Plasma	36
4.5.2 Makrofag	36
4.5.3 Fibroblas	37
4.5.4 Kolagen	37
4.5.5 Variabel klinis	37
4.5.6 Persentase Graft Take	40
4.6 Subjek Penelitian	42
4.7 Prosedur Operasional Penelitian	43
4.8 Tempat Penelitian	44
4.9 Kerangka Operasional Penelitian	45
4.10 Metode Analisis Data	46
BAB 5 HASIL PENELITIAN	47
5.1 Gambaran Histologis	48
5.2 Gambaran Klinis	51
5.3 Persentase Graft Take	55
BAB 6 PEMBAHASAN	56

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

59

7.2 Saran

59

DAFTAR PUSTAKA

60





	DAFTAR TABEL	
Tabel 5.1 Uji Normalitas Data Sapiro Wilk	47	
Tabel 5.2 Perbandingan Jumlah Makrofag, Fibroblas dan Kolagen antara		
Kelompok NON PRP dan PRP	48	
Tabel 5.3 Perbandingan Nilai H5 dan H10 antara PRP dan NON PRP	51	
Tabel 5.4 Perbandingan Nilai Graft Take antara PRP dan NON PRP	55	



	DAFTAR GAMBAR	
Gambar 1	Perhitungan Meek secara teoritis dan penerapannya	13
Gambar 2	Proses distribusi epitelisasi secara geometris	15
Gambar 3	Peran platelet dalam pembentukan bekuan darah	19
Gambar 4	Platelet inaktif dan platelet aktif	20
Gambar 5	Peran platelet dalam penyembuhan luka	22
Gambar 6	Peran protein sekretori platelet dalam berbagai fase penyembuhan luka	23
Gambar 7	Gambaran histologis pengamatan hari ke-5	50
Gambar 8	Gambaran klinis luka perlakuan dan luka kontrol hari ke-5 dan hari ke- 10	53
Gambar 9	Gambaran klinis luka perlakuan dan luka kontrol hari ke-5, 7 dan hari ke-10	54



DAFTAR SINGKATAN

bFGF : *basic fibroblast growth factor*

CTGF : *connective tissue growth factor*

ECGF : *epithelial cell growth factor*

EGF : *epidermal growth factor*

FGF : *fibroblast growth factor*

IGF : *insulin growth factor*

IL-1 : *interleukin 1*

PDAF : *platelet derived angiogenesis factor*

PDEGF : *platelet derived endothelial growth factor*

PDGF : *platelet derived growth factor*

PF4 : *platelet factor 4*

TGF- β : *transforming growth factor beta*

TSP-1 : *thrombospondin-1*

VEGF : *vascular endothelial growth factor*

	DAFTAR LAMPIRAN	
Lampiran 1 : Hasil penghitungan jumlah makrofag, kepadatan fibroblas dan ketebalan kolagen	65	Universitas Brawijaya
Lampiran 2 : Hasil penilaian variabel klinis pada hari ke-5, hari ke-10, persentase graft take pada hari ke-10	66	Universitas Brawijaya
Lampiran 3 : Hasil analisis statistik histologi pada pengamatan hari ke-5	67	Universitas Brawijaya
Lampiran 4 : Dokumen kegiatan penelitian	71	Universitas Brawijaya
Lampiran 5 : Proses pembuatan gel konsentrat platelet	73	Universitas Brawijaya
Lampiran 6 : Surat keterangan kelaikan etik	75	Universitas Brawijaya

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penyembuhan luka bakar sampai saat ini masih menjadi kajian utama berbagai penelitian dalam bidang bedah plastik, terutama pada luka bakar dengan area yang luas, karena aspek ilmiah dan klinisnya saling berkaitan. Beban kesakitan dan kecacatan yang cukup tinggi akibat luka di seluruh dunia menjadi salah satu masalah utama yang harus ditanggulangi. Besarnya beban luka tersebut mendorong untuk ditemukannya suatu cara penanganan luka yang lebih efektif secara klinis. Penanganan luka bakar dengan teknik *micrografting* sudah banyak dilakukan di dunia dengan hasil yang memuaskan dibandingkan dengan *skin graft* biasa. Penelitian ini mengaplikasikan penggunaan *Platelet Rich Plasma* pada *micrografting*, yang belum pernah dilakukan di Indonesia hingga saat ini. Pemberian *Platelet Rich Plasma* terhadap penyembuhan luka akut pernah dilakukan pada penelitian terdahulu di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr.Soetomo Surabaya (Saphira, 2012), mengenai pengaruh pemberian topikal gel konsentrat platelet terhadap penyembuhan luka akut kulit kelinci, di mana hasil pemberian topikal gel konsentrat platelet meningkatkan jumlah makrofag pada fase inflamasi, meningkatkan kepadatan fibroblas dan mempercepat sintesis kolagen pada fase proliferasi pada penyembuhan luka akut kulit kelinci dan diharapkan penerapan pada manusia juga memberikan hasil yang sama.

Salah satu tindakan operatif untuk penanganan luka bakar dengan area yang luas adalah dengan *micrografting* yaitu menggunakan *skin graft* donor ukuran kecil untuk meliputi area resipien yang luas. Teknik *micrografting* memiliki keunggulan dibandingkan teknik *graft* lainnya, diantaranya adalah ukuran yang kecil (sampai dengan kuadrat centimeter) dengan perlukaan dan perdarahan minimal sehingga tepat digunakan untuk luka bakar area luas dan donor yang kurang. Pada *micrografting* terjadi epitelisasi yang seragam, distribusi *graft* merata sehingga mempercepat penutupan luka. Selain itu, resiko kegagalan pada *micrografting* sangat kecil, biasanya terjadi karena kesalahan teknik, vaskularisasi yang buruk, kontaminasi/infeksi dari resipien jaringan luka, edema, trauma dan nutrisi. Kegagalan yang terjadi hanya melibatkan beberapa *graft* saja yang terkena, sedangkan proses epitelisasi di sekitarnya tetap berlangsung baik sehingga tidak mempengaruhi *graft* secara estetik maupun fungsional (Hadjilski, 2000). Proses epitelisasi dapat dinilai secara klinis pada hari ke 5, dihitung berapa persentase *graft take*.

Definisi *graft take* adalah *graft* yang melekat pada resipien (sudah terjadi inhibisi, revaskularisasi paralel dan sistem limfatik), hal ini merupakan proses awal epitelisasi.

Penilaian secara klinis dilakukan dengan cara menghitung *graft* yang tertinggal di *gauze*.

Dengan teknik *micrografting*, penyembuhan luka menjadi lebih cepat, periode perawatan menjadi lebih singkat. Rerata lama perawatan di rumah sakit untuk pasien *micrografting* sekitar 14 hari atau 15 hari, lebih cepat dibandingkan dengan teknik *graft* yang lain sekitar 21 hari (Lacci dan Dardik, 2010).

Pada penelitian ini menggunakan *Platelet Rich Plasma* pada *micrografting*, tujuannya untuk lebih mengoptimalkan proses penyembuhan luka. Platelet mempunyai peranan penting dalam hemostasis dan penyembuhan luka (Anitua, 2004; Marx, 2004).

Luka atau cedera jaringan akan memicu terjadinya aktivasi dan agregasi platelet yang akan menyebabkan pelepasan lebih dari 30 macam *growth factors* atau sering disebut protein sekretori. *Growth factors* yang dilepas diantaranya adalah *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor-β1* (TGF-β1), *epidermal growth factor* (EGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *platelet-derived angiogenesis factor 4* (PF4) dan *platelet-activating factor* (PAF) (Guyton, 2006). Aktivasi platelet juga mengekspresi enzim proteinase yang mencetus pengeluaran enzim proteolitik dari sel tipe lain yang berperan dalam degradasi membrana basalis. *Growth factors* bersifat kemotaktik terhadap makrofag, menginduksi sel puncak mesenkim : fibroblas, sel endotel, osteoblas. Fibroblas akan memproduksi glikosaminoglikan, serat elastin, kolagen dan glikoprotein untuk sintesis matriks ekstraselluler. Platelet juga mengandung protein yang berfungsi sebagai molekul adhesi dalam sintesis matriks ekstraselluler (kolagen), sintesis matriks tulang (osteokonduksi) dan migrasi endotel (Angiogenesis). Protein adhesi sel tersebut adalah fibronektin, vitronektin dan TSP1. Pelepasan *growth factors* dan aktivasi fibrinogen akan memicu terperangkapnya platelet lain di peredaran darah di sekitar daerah luka sehingga pelepasan *growth factors* dari platelet baru yang terperangkap akan terus menerus terjadi (Zimmermann, 2003).

Platelet Rich Plasma adalah plasma yang memiliki kandungan platelet lebih tinggi dari nilai normal. Plasma dengan konsentrasi platelet tersebut mengandung konsentrasi platelet yang mencapai 3-5 kali konsentrasi platelet di darah tepi (Gonshor, 2002; Kevy dan Jacobson, 2004; Marx, 2001). *Platelet Rich Plasma* dapat mempengaruhi

penyembuhan luka dengan menstimulasi respon inflamatorik, meningkatkan makrofag, menginduksi proliferasi fibroblas dan endotel yang akan mempengaruhi pembentukan matriks ekstraselluler (kolagen) dan vaskularisasi (Lui *et al.*, 2002).

Tidak ada efek samping pemberian *Platelet Rich Plasma* yang pernah dilaporkan baik pemberian secara lokal maupun sistemik karena *Platelet Rich Plasma* merupakan produk autologus sehingga reaksi imunologis tidak terjadi. Penggunaan *Platelet Rich Plasma* tidak memicu keganasan karena *Growth factors* bekerja melalui stimulasi penyembuhan luka alamiah, tidak pernah memasuki sel atau nucleus sehingga tidak bersifat mutagenic (Wang dan Avilla, 2007). Penggunaan *Platelet Rich Plasma* juga rendah terhadap angka infeksi karena mempunyai pH 5,6-6,7 dan pada pH tersebut tidak didapatkan inhibisi bakteri (Marx, 2004).

1.2 Rumusan masalah

Apakah pemberian *Platelet Rich Plasma* pada *micrografting* dapat meningkatkan banyaknya makrofag, fibroblas, kepadatan kolagen dan mengoptimalkan penyembuhan luka pasca operasi?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui dan menjelaskan pengaruh pemberian *Platelet Rich Plasma* pada *micrografting* terhadap penyembuhan pasien luka bakar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui dan menjelaskan pengaruh pemberian *Platelet Rich Plasma* terhadap peningkatan makrofag.
2. Mengetahui dan menjelaskan pengaruh pemberian *Platelet Rich Plasma* terhadap peningkatan fibroblas.
3. Mengetahui dan menjelaskan pengaruh pemberian *Platelet Rich Plasma* terhadap peningkatan kepadatan kolagen.
4. Mengetahui dan menjelaskan pengaruh pemberian *Platelet Rich Plasma* terhadap proses epitelisasi pada *micrografting* yang dinilai secara klinis lebih baik.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan

Memberikan dasar teori lebih lanjut untuk pengembangan penelitian mengenai pengaruh pemberian *Platelet Rich Plasma* mempercepat penyembuhan luka *micrografting* pada pasien luka bakar.

1.4.2 Manfaat bagi pelayanan kesehatan

Meningkatkan kualitas pelayanan Rumah Sakit dengan cara mempercepat proses epitelisasi luka *micrografting* pada pasien luka bakar, sehingga memperpendek masa perawatan dengan mempercepat penyembuhan luka pasca operasi.

2.1 *Micrografting*

Pada tahun 1869, Jacques-Louis Reverdin mendeskripsikan metode pertama dari *graft* berukuran kecil, *full thickness skin grafting* untuk penyembuhan luka. Metode Reverdin menggunakan konsep membuat pulau-pulau donor (*skin islands*) untuk mempercepat epitelisasi luka. Lima tahun kemudian, Karl Thiersch mendeskripsikan metode lain dari *skin grafting*, yang sekarang ini dikenal sebagai *split thickness skin grafting*. Di tahun 1914, John Staige Davis menggunakan modifikasi dari metode Reverdin yang dikenal dengan *Pinch Graft*. Kemudian pada tahun 1958 C Parker Meek dan Wall memperkenalkan teknik *micrografting* modern yang dikenal dengan *Meek Wall Micrografting*, yaitu metode ekspansi *graft* yang lebih besar dengan menggunakan *skin graft donor* yang kecil untuk meliputi area *resipien* yang luas. Teknik ini mengikuti pengembangan dermatome yang dapat memproduksi ukuran donor sampai 1.58mm². Konsep ini meliputi (1) *split thickness*, pertumbuhan kulit dimulai dari perifer; (2) potongan kulit yang sangat kecil (Biswas *et al.*, 2010). Meskipun sudah beberapa Rumah Sakit menggunakan metode ini 30 tahun lalu (saat itu metode ini sangat populer dan banyak digunakan), akan tetapi pada akhir tahun 60-an, pabrik mesin Meek menghentikan produksi *Gauze* sehingga *micrografting* tidak lagi digunakan (Herman and Kreis, 1997). Di tahun 1964, James C.Tanner mendeskripsikan metode ekspansi/perluasan *skin graft* dengan *mesh* sehingga dikenal sebagai *MeshGraft* di mana donor dapat meliputi area *resipien* dengan perbandingan (1:3-6), di mana

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

proses penyembuhan lengkap terjadi dengan migrasi epitelisasi antara sisi-sisi *meshed-skin*. Dengan *Mes Skin graft* ini, dokter bedah saat itu dapat menutup area luka yang luas dengan donor yang terbatas, meskipun ratio ekspansi yang diharapkan jarang sesuai dengan ratio ekspansi dalam observasi. (Peeters and Hubens, 1988). Teknik ini memiliki keterbatasan dimana *graft* sulit untuk di aplikasikan/diatur pada area yang luas dan membutuhkan donor site dengan bentuk dan ukuran yang yang sesuai, kemampuan *take* yang terbatas karena *graft* tidak rata, tingkat kegagalan yang tinggi bila ada sedikit area saja terkena infeksi, serta epitelisasi menjadi terlambat bila ratio yang digunakan $>1:6$. Tahun 1981 muncul teknik *Chinese micrografting* yang menggabungkan *skin autograft* dengan *skin allograft* dengan prosedur yang dikenal dengan *intermingled transplantation* untuk menutup luka bakar ketika donor untuk *autograft* sangat terbatas. *Chinese micrografting* dapat diorientasikan secara tepat pada resipien dengan ekspansi ratio yang tidak terbatas, akan tetapi *graft* yang dihasilkan tidak rata (*irregular*), serta membutuhkan waktu penyembuhan yang lama dan dibutuhkan perawatan intensif. Teknik ini digantikan oleh teknik “*Skin soup*” yang dipopulerkan oleh Zhang di tahun 1986, teknik *graft* dengan ekspansi ratio yang tidak terbatas dan tidak membutuhkan perlengkapan khusus, tetapi karena *graft* dipotong ke ukuran yang sangat kecil maka 50% dari *graft* dilekatkan pada resipien pada sisi yang salah sehingga pada akhirnya menghasilkan *graft* yang *take* sedikit dan pada akhirnya membutuhkan donor yang lebih banyak, dan membutuhkan waktu yang lebih lama (Biswas *et al.*, 2010). Karena Teknik *Meek Wall Micrografting* diakui memiliki banyak keunggulan daripada teknik-teknik setelahnya seperti yang dipaparkan di atas, maka ada pabrik baru yaitu Humeca, yang bekerja sama dengan Burn Center Red Cross Hospital Beverwijk, Netherland yang kembali memproduksi *gauze* dan perlengkapan *micrografting* lainnya, dan

akhirnya di tahun 1993 dipopulerkan kembali teknik **Meek Micrografting** yang digunakan sampai sekarang (Herman and Kreis, 1997). **Micrografting** (Kreis, 1987) merupakan versi improvisasi/pengembangan dari versi original Meek Wall **Micrografting**, digunakan untuk tindakan operatif terhadap pasien luka bakar dengan area yang luas dan donor sites yang kurang. Adapun tahapan teknik operasional yang digunakan seperti dijelaskan di bawah ini (Kreis *et al.*, 1993)

1. Mengambil *cork plate* segi empat ukuran 42x42mm



2. Menutup *cork plate* segi empat itu dengan sepotong *split thickness skin autograft*, dengan sisi dermis di sebelah bawah.



3. Sepotong *graft* kecil dapat ditambahkan untuk meliputi *cork plate* hingga penuh



4. *Cork plate* dengan *graft* nya diletakkan di *Meek cutting machine*



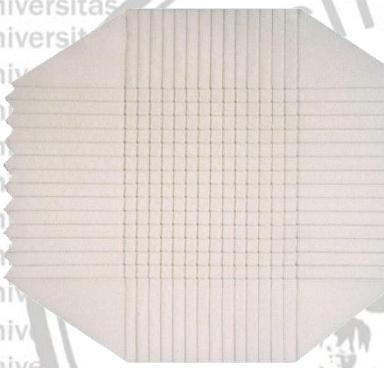
5. *Graft* dipotong menjadi pleats 196 segi empat, dengan ukuran 3x3mm



5. Sisi epidermis *graft* disemprot dengan perekat dan dibiarkan kering



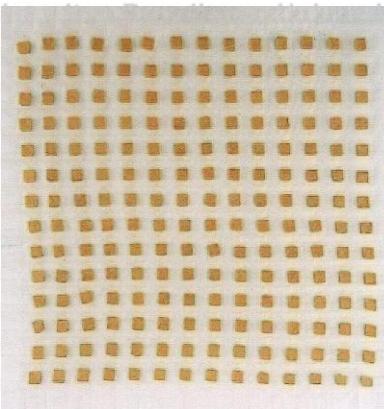
6. Pegang *gauze* yang melekat pada aluminium foil, tempelkan pada *pleats* 196 segi empat



7. Jika *Corkplate* ditekan, *graft side* dibawah *gauze* (ke *pleatsnya*), kemudian *corkplate* dilepas



8. Pleats tadi di tarik ke 4 arah



9. Aluminium foil dilepaskan dari gauze, kemudian gauze dan graftnya di letakkan di resipiennya



10. Gauze difiksasi dengan staples



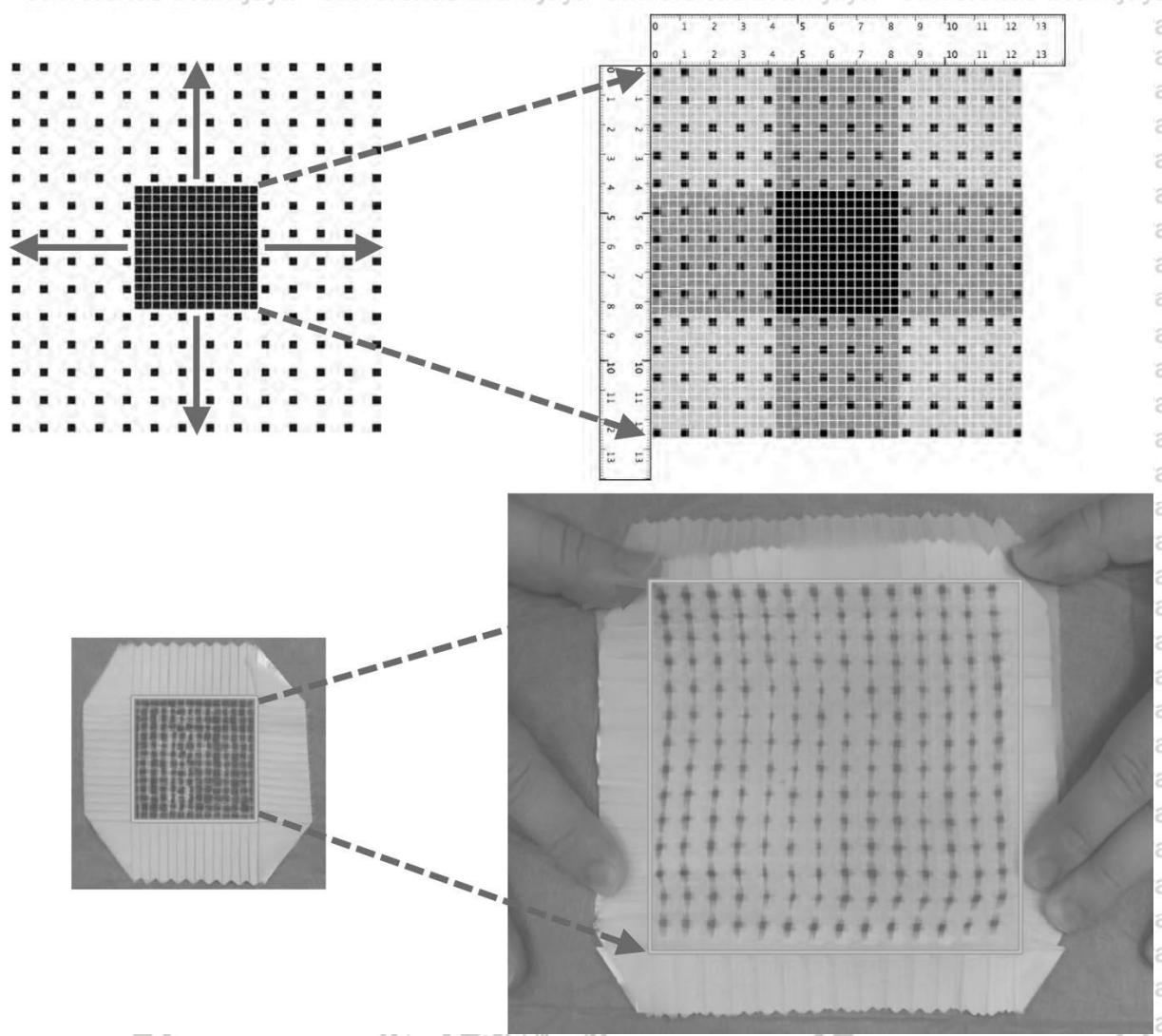
11. Gauze dapat dipotong menjadi lebih kecil lagi untuk area *graft* yang lebih kecil



12. Setelah 5 hari gauze dilepas dari *graft* yang sudah *take*



Micrografting menggunakan variasi metode perluasan area *graft*, terutama digunakan untuk luka bakar dengan area luas yang tidak memiliki *autograft* yang mencukupi untuk meliputi area yang luas tersebut. Beberapa metode dapat dikombinasikan untuk pengembangan dan perluasan *graft*. Tujuannya adalah untuk meliputi sedapat mungkin area luka dengan *skin graft* sekecil mungkin. Kita dapat menggunakan metode ini untuk luka bakar lebih dari 10% Total Body Surface Area (TBSA) (Hadjilski, 2000).



Gambar 1. Perhitungan Meek secara teoritis dan penerapannya. Gambar kiri atas menunjukkan arah, gambar kanan atas menunjukkan ekspansi sebenarnya.

Untuk ekspansi **ratio 1:9**, dari $(14 \times 14) = 196$ kotak dan jumlah kelipatan *graft* $(3 \times 3) = 9$ keseluruhan menjadi $(42 \times 42) = 1764 \text{ mm}^2$ pada setiap *cork plate*, secara teoritis dengan rasio 1:9 menjadi $(126 \times 126) = 15,876 \text{ mm}^2$ per lembar, dengan jarak masing-masing *graft islands* sekitar 6,4mm. (Lumenta *et al.*, 2009)

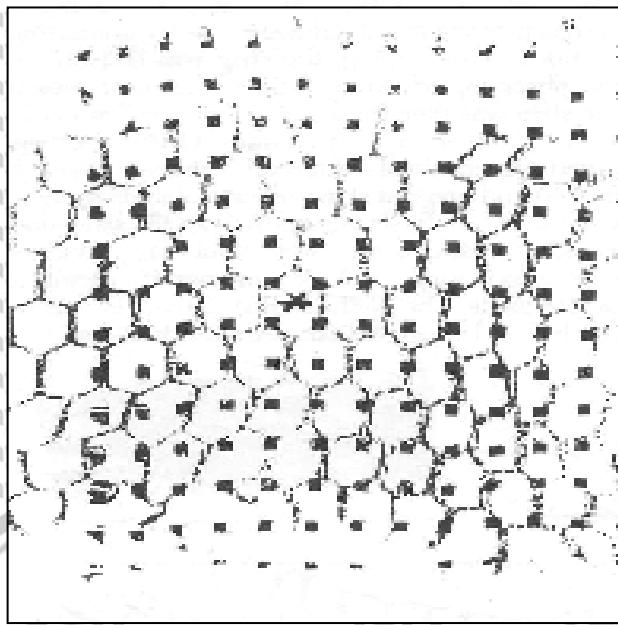
Untuk ekspansi **ratio 1:3**, dari $(14 \times 14) = 196$ kotak dan jumlah kelipatan *graft* $(1,5 \times 1,5) = 2,25$ keseluruhan menjadi $(42 \times 42) = 1764 \text{ mm}^2$ pada setiap *cork plate*, secara teoritis dengan rasio 1:3 menjadi $(63 \times 63) = 3,969 \text{ mm}^2$ per lembar, dengan jumlah $(14 \times 14) = 196$ *graft islands* dengan jarak masing-masing *graft islands* sekitar 3,5mm.

Proses penyembuhan luka *micrografting* ada 4 fase, yaitu fase inflamasi, revaskularisasi, sirkulasi limfatik dan reinervasi. **Fase pertama** adalah inflamasi/inhibisi plasma, terjadi proses hemostasis antara 28-48 jam. Platelet akan melepaskan *growth factors* dan sitokin untuk sintesis matriks fibrin. Lapisan fibrin seperti lem melekatkan *graft* ke jaringan luka. Pada fase inflamasi, terjadi difusi nutrisi dari jaringan luka oleh kapiler dan sangat dipengaruhi oleh lingkungan anti bakteri. Pada akhir fase ini terjadi edema, terbentuk jaringan yang berwarna kemerahan, lunak, kaya fibroblas, endotel dan sel radang.

Fase kedua, yaitu fase revaskularisasi. Pada 48 jam terjadi inokulasi, donor dan resipien *end capillary* berinisiasi membentuk jaringan vaskular. Pada 72 jam terjadi peningkatan jumlah *vessels connecting*. Pada 4-7 hari terjadi peningkatan kekuatan fungsi dari pembuluh darah, dan sistem perdarahan yang lengkap, sampai *graft* terbentuk. Pembentukan pembuluh darah baru dan inokulasi *graft* merupakan tanda penting fase revaskularisasi karena ketiadaannya pembuluh darah baru merupakan tanda dari gangguan penyembuhan luka. Setelah fase vaskularisasi mulai berhenti, fase sirkulasi limfatik mulai berjalan.

Fase ketiga adalah fase sirkulasi limfatik. Perubahan yang terjadi adalah *pararelling revascularisation*. Fase penyembuhan luka ini berlangsung pada hari ke 5-7.

Fase keempat adalah fase reinervasi. Fase ini terjadi 1 bulan setelah terbentuknya *graft*. Proses reinervasi berlangsung dari pinggir *graft* ke tengah (sentral) *graft*.



Gambar 2. Proses distribusi epitelisasi pada micrografting secara geometris. Proses ini dimulai pada hari ke 5-6 setelah terjadi *parallelizing revascularization*, dengan kecepatan pertumbuhan 1mm/hari (Kreis *et al.*, 1994)

Pada *micrografting* epitelisasi lengkap dari *wound site* (resipien) terjadi pada hari ke 21 (Kreis *et al.*, 1994). *Micrografting* paling baik hasilnya bila *graft* yang digunakan memiliki ketebalan *graft* yang paling baik seperti daerah punggung, bahu dan pinggul. *Graft* yang paling baik memiliki sejumlah kelenjar pilosebacea, yang berpotensi mempercepat penyembuhan luka secara signifikan. Kontrol klinis pertama setelah 6 hari operasi menunjukkan 93% *graft take*, hanya 7% yang terlepas dan hal ini disebabkan trauma mekanik saat manipulasi dan melekatan *graft*. Penyembuhan luka pada *graft* juga dipengaruhi oleh pembentukan seroma, vaskularisasi yang buruk, kontaminasi/infeksi dari resipien jaringan luka, edema, kesalahan teknis, dan faktor nutrisi (Lacci dan Dardik, 2010).

- Micrografting* ini memiliki beberapa keuntungan antara lain (Hadjilski, 2010) :
- ✚ *Graft* ukuran kecil (sampai dengan kuadrat centimeter), ini sangat penting untuk luka bakar area luas dan *donor site* yang sedikit/terbatas.
 - ✚ Dengan ukuran *graft* yang kecil tersebut,maka dapat menurunkan jumlah area donor.
 - ✚ Memungkinkan untuk koefisien distribusi yang lebih besar, bisa sampai 1:9, sehingga menurunkan resiko infeksi lokal maupun sistemik dan insufisiensi organ.
 - ✚ Distribusi dari *graft* yang serupa dan merata, sehingga dapat direncanakan luas area donor yang akan diambil.
 - ✚ Mudah diatur(manageable) dibandingkan *mesh STSG* yang berukuran luas.
 - ✚ Epitelisasi yang seragam, karena jarak yang minimal antar *graft* dibandingkan dengan metode *graft* yang lain, sehingga mempercepat penutupan luka.
 - ✚ Secara fungsional dan estetik lebih baik, karena hasilnya lebih halus dan lebih seragam pertumbuhannya.
 - ✚ Mudah diorientasikan masing-masing sisi (sisi atas: epidermis, sisi bawah: dermis), karena melekat pada *micrografting gauze*, sehingga resiko kegagalan minimal.
 - ✚ *Micrografting gauze* memudahkan kita untuk meletakkan dan fiksasi *graft* pada daerah yang sulit seperti lipat ketiak, bahu, pinggul dan daerah bokong.
 - ✚ *Graft* jarang terlepas selama perawatan luka, sehingga tidak menimbulkan bekas. Walaupun ada *graft* yang tidak take, tidak mempengaruhi hasil *graft* secara keseluruhan.
 - ✚ Pada kasus kegagalan karena komplikasi infeksi, hanya beberapa *graft* saja yang terkena, sedangkan proses epithelisasi di sekitarnya tetap berlangsung baik, tidak mempengaruhi *graft* secara estetik maupun fungsional. Dari hasil kultur yang diambil dari luka operasi beberapa



microorganisme yang didapat antara lain: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus*, *Pseudomonas maltophilia*. Infeksi dapat diatasi dengan pemberian antibiotik spesifik.

- ✚ Penyembuhan pasien lebih cepat, periode perawatan menjadi lebih singkat sekitar 14 hari
- ✚ Operasi pembedahan ini non traumatic dan komplikasi perdarahan sangat sedikit.
- ✚ Dapat dikombinasikan dengan metode lain seperti *mesh graft* dan kultur jaringan.

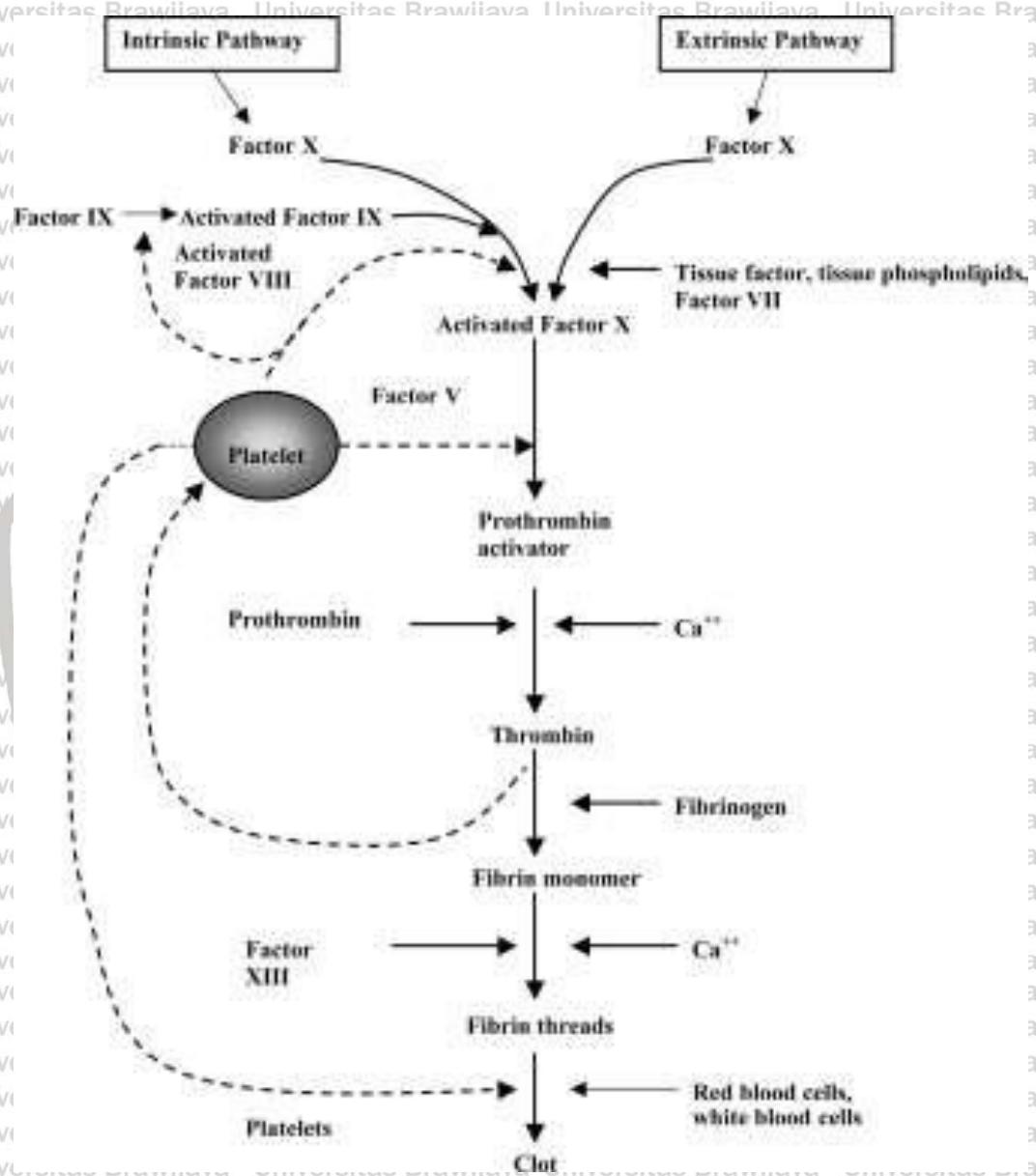
Di samping beberapa keuntungan, *micrografting* juga memiliki kelemahan yaitu terbentuk kontraktur parut. Sampai saat ini berbagai penelitian adjuvan untuk memperbaiki efisiensi *micrograft* misalnya: terapi tekanan mekanikal terutama pada fase awal penyembuhan luka. Pada beberapa studi dilaporkan bahwa tekanan >25mmHg menurunkan edema parut, meningkatkan vaskularisasi, produksi mukopolisakarida, degranulasi sel mast, proliferasi miofibroblast dan meningkatkan pengaturan jaringan ikat kolagen. Protein (kolagen I dan III, fibronektin, prokolagen) dan ekspresi enzim (matriks metalloproteinase dan inhibitor jaringan metalloproteinase) yang terlibat pada perubahan matriks ekstraseluler pada fase yang berbeda berperan dalam formasi kontraktur.

2.2 Platelet

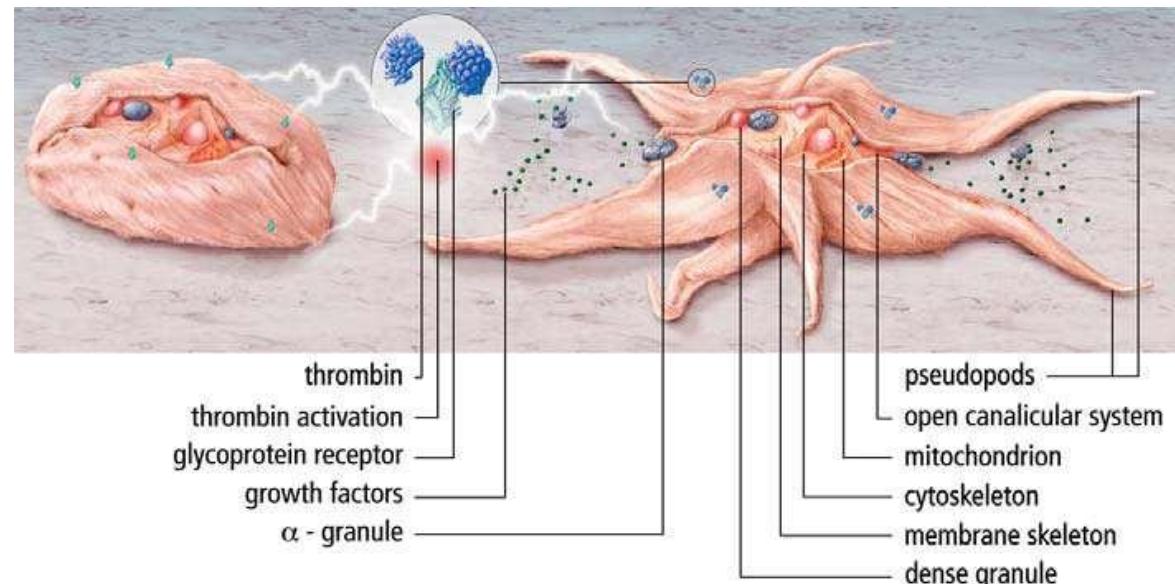
Platelet adalah suatu fragmen sitoplasmik megakariosit yang dibentuk di sumsum tulang, berbentuk bulat atau oval, dengan diameter rata-rata 2 μ m (Guyton, 2006). Platelet memiliki membran sel tiga lapis dan di permukaannya terdapat reseptor glikoprotein campuran fosfolipid dua lapis dan kolesterol. Platelet tidak memiliki inti di dalam selnya.

tetapi memiliki organel dan struktur berupa mitokondria, retikulum endoplasma, aparatus golgi, mikrotubulus dan granul seperti alpha, delta dan lambda (α , δ , λ). Setiap platelet mengandung 50-80 *alpha granule*, yang menempel pada membran dan dibentuk selama proses maturasi megakariosit. *Alpha granule* berdiameter 200-500 nm dan mengandung lebih dari 30 macam protein bioaktif yang berperan penting dalam proses hemostasis dan penyembuhan luka jaringan (Everts *et al.*, 2006). Sitoplasma platelet mengandung sistem kanalikulus yang bersifat terbuka yang dapat meningkatkan luas permukaan yang berfungsi terhadap rangsang agonis dan pelepasan zat sekresi. Daerah submembran mengandung mikrofilamen aktin dan myosin yang mempermudah perubahan morfologis. Sel tersebut menjalani siklus asam trikarboksilat dan memanfaatkan glukosa melalui glikolisis dan jalur pirai heksosa monofosfat; fungsinya berkaitan erat dengan aktivitas metaboliknya. Platelet beredar intravaskuler dan sering kali terkonsentrasi di limpa. Konsentrasi platelet normal dalam darah sekitar 140.000-400.000 platelet/mm³. Platelet memiliki masa hidup rata-rata 10 hari dan kemudian dihancurkan oleh makrofag. Saat terjadi luka platelet mengalami agregasi mengaktifkan pembekuan darah (hemostasis) dan degranulasi melepaskan protein sekretori (*growth factors*) yang bersifat kemoaktran terhadap monosit menginvasi jaringan luka dan mitogenik dengan menginduksi sel punca mesenkim untuk mengawali proses penyembuhan luka.

Platelet berfungsi dalam hemostasis dan proses inisiasi penyembuhan luka (Zucker-Franklin, 1998). (Gambar 3)



Gambar 3. Peran platelet dalam pembentukan bekuan darah (Diambil dari Eppley et al., 2004, *Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma*).

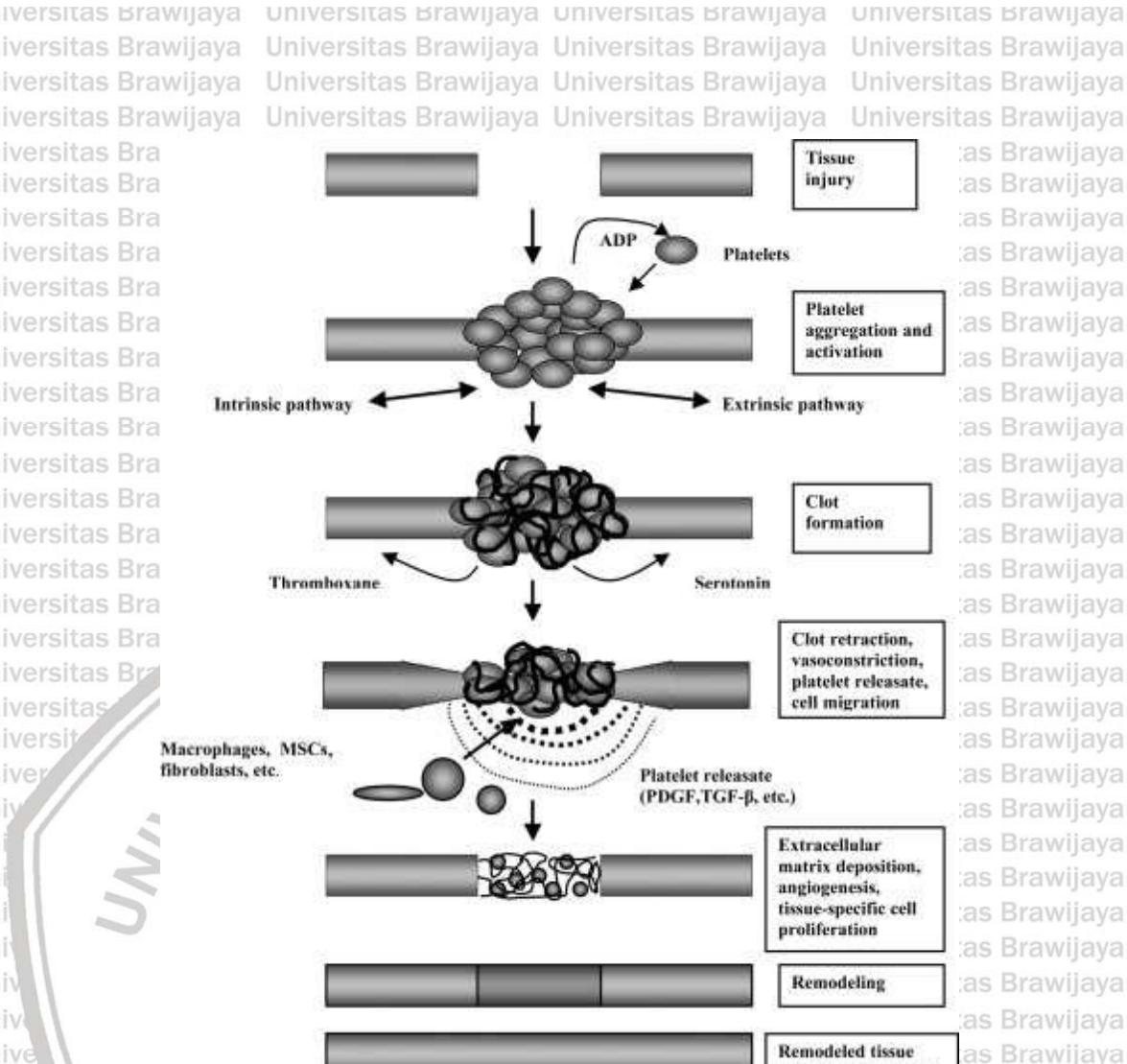


Gambar 4. Platelet inaktif (kiri) dan platelet aktif (kanan). Platelet aktif memiliki pseudopodia untuk membantu agregasi dan melepaskan *alpha granule* (Diambil dari Everts *et al.*, 2006, *Platelet rich plasma and platelet gel, A review*).

Sejumlah protein yang terkandung dalam *alpha granule* platelet sangat mempengaruhi penyembuhan luka (Harrison dan Cramer, 1993). Protein tersebut antara lain adalah *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor -β* (TGF- β), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), *insulin growth factor* (IGF), *platelet factor 4* (PF4), *platelet activating factor* (PAF), *interleukin 1* (IL-1), *platelet derived angiogenesis factor* (PDAF),

platelet derived endothelial growth factor (PDEGF), epithelial cell growth factor (ECGF), osteocalcin, osteonektin dan fibrin(Guyton, 2006). Protein tersebut disebut juga sebagai protein sekretori, termasuk sitokin dan kemokin.

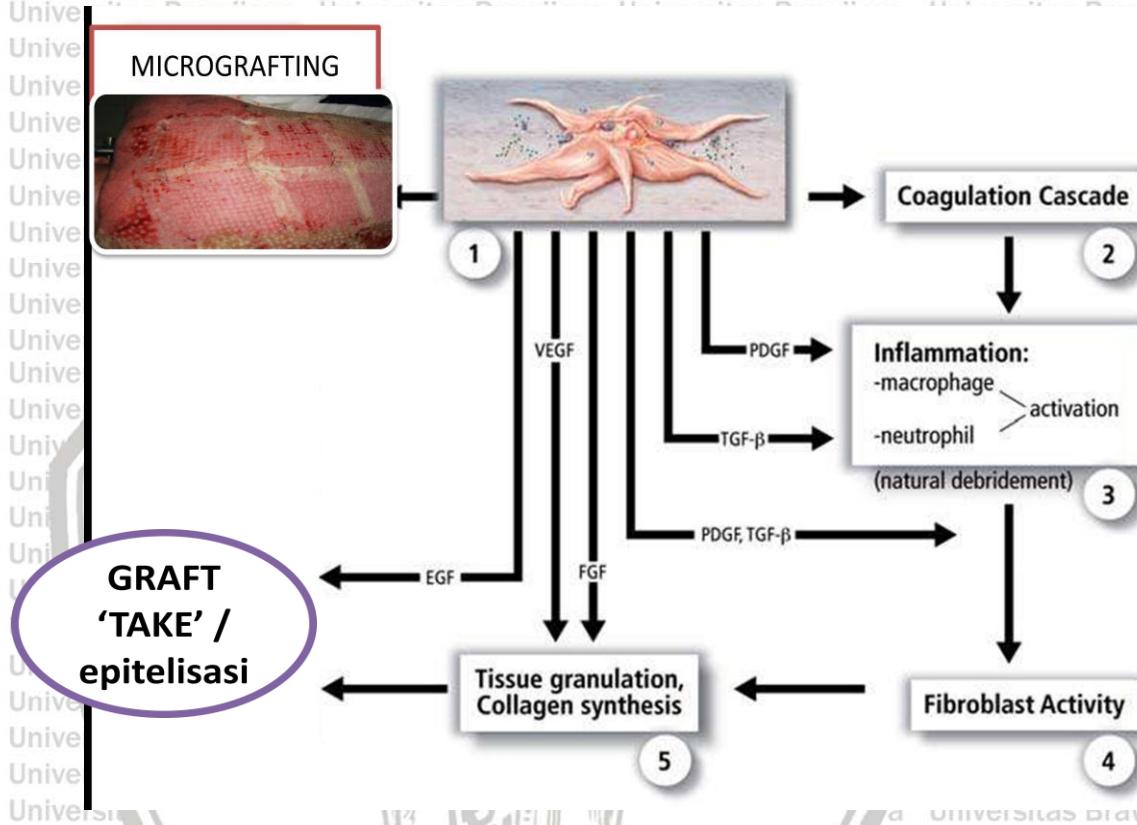
Aktivasi platelet menyebabkan pelepasan *alpha granule* kemudian menempel pada membran sel target, dan sebagian dari protein sekretori seperti PDGF dan TGF- β akan diubah menjadi bentuk bioaktifnya dengan bantuan rantai histon dan karbohidrat (Marx *et al.*, 2004). Protein sekretori bersifat kemoaktran terhadap monosit darah untuk menginvasi daerah luka dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Protein sekretori juga bersifat mitogenik menempel pada reseptor membran sel target (sel punca mesenkim: osteoblas, fibroblas, sel endotel dan sel epidermal), gen akan diekspresikan, kemudian akan terjadi proliferasi dan selanjutnya bersama dengan FGF dan VEGF memproduksi kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin dan glikoprotein membentuk matriks ekstraselluler, osteoid dan angiogenesis kapiler baru (Marx, 2004). Fibronektin, vitronektin, TSP-1 yang berfungsi sebagai molekul adhesi sel juga berperan dalam osteokondksi dan matriks tulang, jaringan ikat dan migrasi epithelial. Aktivasi platelet juga mengekspresi enzim metalloproteinase yang berfungsi sebagai enzim proteolitik untuk degradasi membrana basalis. Pelepasan *growth factors* dan aktivasi fibrinogen akan memicu terperangkapnya platelet lain di peredaran darah disekitar daerah luka sehingga pelepasan *growth factors* dari platelet baru yang terperangkap akan terus menerus terjadi (Zimmermann, 2003).



Gambar 5. Peran platelet dalam penyembuhan luka (Diambil dari Eppley *et al.*, 2006, *Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma*).

Setelah pengaruh awal platelet mulai berkurang, makrofag yang menginvasi lewat kapiler baru, akan melanjutkan regulasi penyembuhan luka dengan mensekresi sendiri proteinnnya (Gambar 5). Hal ini berarti bahwa platelet yang menginvasi luka pada awal terjadinya luka akan menjadi penentu utama dalam proses penyembuhan luka (Marx, 2004).

Protein sekretor platelet berperan besar dalam berbagai aspek penyembuhan luka dan hemostasis (Anitua *et al.*, 2004) telah membuktikan hal ini secara menyeluruh dalam penelitiannya (Gambar 6).



Gambar 6. Peran protein sekretor platelet dalam berbagai fase penyembuhan luka (Diambil dari Everts *et al.*, 2006, Platele trich plasma and platelet gel, Areview).

PDGF, TGF- β bersifat kemotaktik terhadap monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofag. PDGF, TGF- β bersifat mitogenik menempel pada membran sel punca mesenkim: fibroblas, endotel dan osteoblas yang bersama-sama dengan FGF, VEGF, EGF membentuk matriks ekstraseluler dengan kolagen sebagai struktur utamanya, kapiler dan matriks tulang.

2.3 **Platelet Rich Pasma dan Penyembuhan Luka**

Platelet Rich Plasma didefinisikan sebagai bagian dari fraksi plasma darah yang mengandung konsentrasi platelet diatas nilai normal (Mehta, 2008 dan Marx, 2001).

Platelet Rich Plasma sering disebut juga sebagai *Platelet Enrich Plasma*, *Platelet Rich Concentrat*, *Autologus Platelet Gel* dan *Platelet Releasate*. *Platelet Rich Plasma* ini memiliki kemampuan mitogenik dan kemotaktik, tidak hanya mengandung platelet dan protein sekretori dalam konsentrasi tinggi tetapi juga faktor pembekuan.

Platelet mengandung *alpha granule* yang dilepaskan saat teraktivasi. *Alpha granule* sendiri mengandung banyak protein sekretori (*growth factors*) antara lain *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor- β 1* (TGF- β 1), *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), *factor platelet factor 4* (PF4) dan *platelet-activating factor* (PAF), *interleukin* (IL-1), *platelet derived angiogenesis factor* (PDAF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet derived endothelial growth factor* (PDEGF), *epithelial cell growth factor* (ECGF), *insulin growth factor* (IGF), osteocalcin, osteonectin, fibrinogen, and thrombospondin (Steed *et al.*, 1992; Nikolidakis *et al.*, 2008; Henderson *et al.*, 2003; Knighton *et al.*, 1988 ; Weibrich *et al.*, 2001; Harrison *et al.*, 1993). Henderson pada tahun 2003 menemukan *Platelet Rich Plasma* dapat mempengaruhi penyembuhan luka dengan menstimulasi respon inflamatorik.

Protein sekretori yang dilepaskan platelet bersifat kemoaktran terhadap monosit darah untuk menginvasi daerah luka dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Selain bersifat fagositik terhadap debris dan patogen, makrofag juga berperan dalam proses penyembuhan luka. Makrofag berperan pada fase inflamasi, melepaskan *growth factors* yang

menginduksi fibroblas yang mensintesis matriks ekstra seluler (DiPietro dan Burns, 2003).

Growth factors imenginduksi fibroblas untuk berproliferasi, bermigrasi dan membentuk matriks ekstraseluler (Bhanot *et al.*, 2002). *Growth factors* mensupresi pelepasan sitokin untuk sintesis matriks fibrin, berinteraksi dengan makrofag untuk penyembuhan jaringan dan regenerasi (Mishra *et al.*, 2009), membentuk pembuluh darah baru dan mempercepat terjadinya epithelialisasi (Knighton *et al.*, 1986). Fibroblas memproduksi kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin dan glikoprotein yang membentuk matriks ekstraseluler.

Kolagen tipe III dibentuk pada hari ke 1-3 pasca trauma dan akan mencapai puncaknya pada minggu pertama. Kolagen tipe III ini akan didegradasi oleh enzim metaloproteinase, digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat saat proses penyembuhan luka memasuki fase *remodelling* yaitu sekitar minggu ketiga. Platelet berperan dalam mekanisme pertahanan tepi luka dengan memproduksi *signaling protein* yang akan menghancurkan makrofag (Lindeboom *et al.*, 2007). *Platelet Rich Plasma* juga mengandung sejumlah kecil dari leukosit (Bhanot *et al.*, 2002) yang akan mensintesis interleukin sebagai bagian dari respon imun non spesifik. Segera setelah proses penyembuhan luka dimulai, sintesis kolagen melebihi degradasinya dimana proses sintesis dan degradasi ini akan mencapai keseimbangan pada akhir penyembuhan luka. Jaringan baru didaerah luka pada akhirnya akan didominasi oleh kolagen (Gurtner, 2007).

Pengaruh pemberian *Platelet Rich Plasma* merupakan fungsi yang dipengaruhi oleh berbagai variable seperti konsentrasi platelet, volume yang diberikan, derajat luka, jenis luka dan keadaan umum individu (Guyton, 2006). Belum ada satu pun rekomendasi pasti akan proses iji preparasi *Platelet Rich Plasma* serta volume pemberiannya karena

banyaknya variabel yang terlibat dan interaksi antar variable. Pada konsentrasi yang rendah tidak mempercepat penyembuhan luka, demikian juga pada konsentrasi yang tinggi tidak mempercepat penyembuhan luka (Marx, 2001). Gonshor (2002), Kevy dan Jacobson (2004), serta Marx (2001) menyatakan bahwa konsentrat platelet dalam *PRP* adalah plasma dengan konsentrasi platelet 3-5 kali lipat nilai normal. Konsentrasi platelet yang diperlukan untuk mencapai efek biologis yang sebanding dalam proses penyembuhan luka dapat berbeda pada setiap individu (Weibrich, 2002).

Proses pembuatan *Platelet Rich Plasma* juga mempengaruhi hasil akhir yang diperoleh (Marx, 2001). Platelet harus dikoleksi sebelum dilakukan tindakan invasif apapun karena platelet akan terkonsentrasi pada daerah yang dimanipulasi sehingga konsentrasi platelet dalam darah tepi akan berkurang (Man *et al.*, 2001; Petrungaro, 2001).

Platelet Rich Plasma akan tetap stabil selama 8 jam sehingga darah tepi dapat diaspirasi beberapa waktu sebelum tindakan pembedahan (Anderson, 2000; Marx, 2004). Setelah darah tepi yang dicampur dengan antikoagulan dipusingkan dengan *hard spin* 4000rpm 10 menit akan diperoleh tiga lapis komponen akibat perbedaan kepadatan masing-masing komponen dalam darah tepi (Marx, 2001). Lapisan paling bawah terdiri dari sel darah merah dengan berat jenis 1,09, lapisan tengah terdiri dari platelet dan sel darah putih (*buffycoat*) dengan berat jenis 1,06 dan lapisan paling atas merupakan lapisan plasma dengan berat jenis 1,03 (Welsh, 2000). Komponen plasma dan *buffycoat* kemudian dipisahkan dari komponen eritrosit lalu dipusingkan lagi dengan *soft spin* 2000rpm 5 menit sehingga diperoleh dua lapisan (Marx, 2001). Lapisan dibawah berupa *Platelet Rich Plasma* dan lapisan atas merupakan *Platelet Poor Plasma*. Prinsip pemusingan *hard spin*

adalah pemusingan dengan kecepatan tinggi dan waktu lama untuk mengendapkan komponen darah dengan kepadatan tinggi yaitu sel darah merah. Sedangkan *soft spin* merupakan pemusingan dengan kecepatan rendah dan waktu yang lebih singkat untuk memisahkan komponen darah yang memiliki kepadatan rendah seperti platelet. Sampai saat ini pemusingan masih merupakan teknik utama dalam preparasi *Platelet Rich Plasma* dan volume *Platelet Rich Plasma* yang dihasilkan 10-20% volume darah tepi yang diambil.

Integritas membran platelet dipertahankan selama pemusingan dengan menggunakan antikoagulan *sitrat* yang akan mengikat ion kalsium yang dapat mempresipitasi koagulasi sehingga mengaktifasi platelet. Selain itu pemusingan dengan gaya gravitasi rendah akan tetap menjaga integritas membran platelet (Marx, 2001; Gonshor, 2002). Selama proses preparasi, platelet harus tetap dipertahankan dalam keadaan inaktif agar protein sekretori tidak dilepaskan terlalu dini.

Platelet Rich Plasma tersebut harus diaktifkan terlebih dahulu agar platelet dapat melepaskan kandungan granulnya. Aktivasi dilakukan dengan menambahkan 1.000 unit *thrombin* permilliliter plasma dan atau **kalsium klorida 10% ($CaCl_2$ 10%)** dengan menggunakan campuran *Platelet Rich Plasma* dan kalsium klorida dalam perbandingan 10:1 (Marx, 2004; Man *et al.*, 2001). Trombin langsung mengaktifasi platelet sedangkan ion kalsium mempresipitasi koagulasi karena sebelumnya ion kalsium terikat oleh sitrat sebagai antikoagulan.

Potensi regenerasi *Platelet Rich Plasma* dipengaruhi oleh jumlah protein sekretori yang dilepaskan saat platelet teraktivasi (Eppley *et al.*, 2004). *Alpha granule* yang

dilepaskan saat platelet teraktivasi segera mengeluarkan protein sekretori dalam 10 menit setelah aktivasi, di mana 95% *growth factors* pra-sintesa disekresi dalam waktu 1 jam pertama sehingga gel yang terbentuk harus segera diaplikasikan pada luka (Marx, 2004).

Setelah rentetan pelepasan protein ini, platelet akan mulai mensintesis dan mensekresi protein tambahan selama masa hidupnya, 10 hari (Froum *et al.*, 2002; Zimmermann *et al.*, 2003).

Kadar protein tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi protein itu sendiri dalam platelet (variasi individu), teknik preparasi dan aktivasi platelet (Marx, 2001 dan Weibrich *et al.*, 2002). Protein sekretori dapat dihitung setelah dilepaskan oleh platelet yang teraktivasi. Konsentrasi protein sekretori yang dilepaskan dapat dihitung jumlahnya permilliliter plasma atau per100.000 platelet. Weibrich *et al.*, pada tahun 2004 menggunakan metode beku/cair untuk mengukur protein sekretori yang dilepaskan.

Kandungan protein sekretori PDGF, TGF- β , EGF, VEGF dalam *Platelet Rich Plasma* terbukti memiliki kadar 4-5 kali lipat kandungan protein sekretori darah tepi normal (Zimmermann, 2003).

Proliferasi dan diferensiasi sel stem mesenkimal dewasa berhubung secara langsung dengan konsentrasi platelet. Sebuah kurva *dose-response* yang mengindikasikan bahwa respon selular yang memadai terhadap konsentrasi platelet pertama kali muncul apabila terjadinya peningkatan 4-5 kali lebih dari jumlah platelet dasar dicapai, dalam hal ini konsentrasi platelet pada *PRP* juga meningkat 4-5 kali dari jumlah normal. Penelitian lain yang dilakukan oleh Lui *et al.*, menunjukkan bahwa proliferasi fibroblast dan produksi

kolagen tipe I juga meningkat, berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi platelet. Respon tersebut dependen terhadap pH, dengan hasil terbaik berlaku pada tingkat pH yang lebih asam. Oleh karena kebanyakan orang mempunyai platelet dasar sekitar $200000 \pm 75000/\mu\text{L}$, maka hitungan platelet dalam *PRP* sebanyak 1juta/ μL yang diukur pada standar 6-mL menjadi patokan ‘*PRP* terapeutik’ (Marx, 2004). Penelitian *graft site* dengan kedalaman dan periode yang sama antara *graft site* yang ditambah dengan *PRP* dibandingkan **tanpa PRP**, terdapat vaskularisasi yang lebih kaya, 95% penyembuhan epitel dan dermis yang matur, tidak menunjukkan eritema perifer dan, jaringan parut minimal. Hal ini mengindikasikan *PRP* mempunyai efek penyembuhan yang lebih cepat dan lengkap, jaringan parut lebih sedikit serta umur melanosit yang lebih lama.

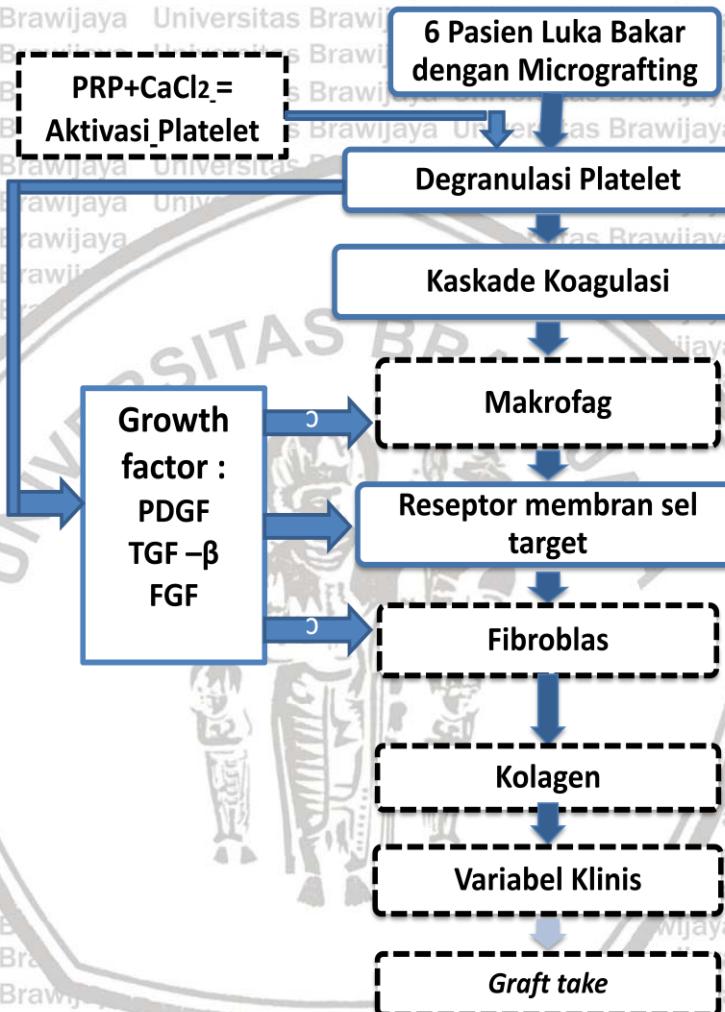
Banyak penelitian yang dilakukan untuk mengkaji manfaat konsetrat platelet dalam plasma terhadap penyembuhan luka dalam berbagai bidang seperti bedah plastik baik estetik maupun rekonstruksi, bedah jantung dan pembuluh darah, serta bedah ortopedi tetapi laporan penelitian klinis acak dengan kelompok kontrol yang dapat menjelaskan secara menyeluruh masih jarang dipublikasikan, dan sebagian besar merupakan laporan kasus. Kuantitas dan metode aplikasi *Platelet Rich Plasma* bergantung pada tujuan aplikasinya (Margolis *et al.*, 2001).

Tidak ada efek samping pemberian konsentrat platelet yang pernah dilaporkan, baik pemberian secara local maupun sistemik. *Platelet Rich Plasma* merupakan produk autologus sehingga reaksi imunologis *graft* dengan *host* tidak terjadi. Wang dan Avila pada tahun 2007 membuktikan bahwa pemberian *Platelet Rich Plasma* aman dan peningkatan

growth factors akibat pengaruh konsentrat platelet tidak memicu timbulnya keganasan lokal. *Growth factors* bekerja melalui stimulasi penyembuhan luka alamiah, tidak pernah memasuki sel atau nucleus sehingga tidak bersifat mutagenic. Oleh karena itu, *PRP* tidak mempunyai upaya untuk menginduksi formasi tumor. Pemberian *Platelet Rich Plasma* secara lokal tidak mempengaruhi peredaran darah sistemik (Redler *et al.*, 2011). Pemberian konsentrat platelet secara lokal tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap konsentrasi sistemik sitokin dan *growth factors* dalam tubuh (Banfi *et al.*, 2006).

Penggunaan *PRP* juga rendah terhadap angka infeksi, karena *PRP* merupakan darah beku yang biasa seperti yang terbentuk setiap kali terjadinya trauma dan *PRP* mempunyai nilai pH 6.5-6.7 dibanding dengan darah beku matur 7.0-7.2. Menurut penelitian membandingkan *graft* tulang dan luka kulit yang serupa tanpa dan dengan *PRP*, tidak didapatkan inhibisi bakteri yang menimbulkan infeksi dengan nilai pH tersebut (Marx, 2004), tetapi saat dilakukan preparasi *PRP* klinisi tetap harus menggunakan antiseptik.

3.1 Diagram Kerangka Konseptual



Keterangan :

yang diteliti

menstimulusi

Proses penyembuhan luka dimulai saat terjadi cedera jaringan (luka *micrografting*) dan diberikan PRP yang sudah diaktifkan dengan penambahan *calcium clorida* (CaCl_2). Aktivasi platelet akan menyebabkan agregasi dan degranulasi platelet.

Proses degranulasi platelet akan memicu dimulainya kaskade koagulasi. Platelet yang teraktivasi akan melepaskan *growth factors* diantaranya PDGF dan TGF β yang bersifat kemoaktran terhadap monosit darah untuk berdiferensiasi menjadi makrofag.

Makrofag muncul 48-96jam setelah terjadi luka dan mencapai puncaknya pada hari ke

3. Makrofag merupakan sel utama dalam proses penyembuhan luka yang mempercepat

fase inflamasi memasuki fase proliferasi (Falanga, 2004). Makrofag yang terbentuk

mengelakukn fagositosis sel radang dan melepaskan PDGF dan TGF β yang menempel

pada membran sel punca mesenkim, berperan dalam proliferasi fibroblas, osteoblas dan

sel endotel bersama-sama dengan FGF dan protein adhesi fibronektin, vitronekton dan

TSP-1 membentuk matriks ekstraseluler, matriks tulang dan kapiler/vaskularisasi baru

(angiogenesis). Fibroblas merupakan sel dominan pada hari ketiga sampai kelima

pasca cedera dan mampu memicu pembelahan sel baru. Fibroblas terakumulasi

didaerah luka antara 2-5 hari dan mencapai puncaknya 1 minggu (Falanga, 2004). Pada

fase proliferasi terjadi sintesis dan aktivasi fibroblas oleh protein sekretori yang

dihasilkan makrofag, pembentukan kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin,

glikoprotein sebagai komponen matriks ekstraselluler dan terjadi penggantian matriks

fibrin (matriks temporer) menjadi matriks ekstraselluler dengan kolagen sebagai

struktur utamanya. Kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih

kuat saat proses penyembuhan luka memasuki fase *remodelling* yaitu sekitar minggu

ketiga. Sintesis kolagen melebihi degradasinya dimana proses sintesis dan degradasi ini akan mencapai keseimbangan pada akhir penyembuhan luka. Jaringan baru didaerah luka pada akhirnya akan didominasi oleh kolagen (Gurtner, 2007). Matriks ekstraselluler ini akan mengalami *remodelling* secara terus menerus sampai luka sembuh. Kolagen yang berlebihan akan terjadi penebalan jaringan parut atau hypertrophic scar, sebaliknya produksi yang berkurang akan menurunkan kekuatan jaringan dan luka akan selalu terbuka. Kolagen paling banyak ditemukan pada jaringan fibrosa seperti tendon, ligament dan kulit. Deposisi kolagen meningkatkan kekuatan jaringan baru luka.

Pada tahap selanjutnya, terjadi proses revaskularisasi yang dimulai dengan proses inokulasi dan peningkatan jumlah *vessels connecting* pada hari ke 3, dilanjutkan proses revaskularisasi paralel pada hari ke 5-7 kemudian terbentuk sirkulasi limfatik. Sel epitel tumbuh dari tepi luka, bermigrasi ke jaringan ikat yang masih hidup (matriks ekstraseluler) sampai menutup luka. Diharapkan proses epitelisasi terjadi pada hari ke 5-7 dan terjadi pertumbuhan epitel 1mm/hari dari pulau-pulau *graft*, dan sampai terjadi epitelisasi lengkap pada hari ke 7-10. Tahap ini dipengaruhi oleh tipe eksudat, jumlah eksudat dan jaringan granulasi.

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian *Platelet Rich Plasma* pada tindakan *micrografting* dapat mengoptimalkan epitelisasi melalui peningkatan makrofag, fibroblas dan kepadatan kolagen sehingga secara klinis lebih baik.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental klinis dengan rancangan *post test only control group*, perlakuan berupa pasien luka bakar dengan *micrografting* pada separuh luasan diberikan *PRP* dan separuh luasannya tidak diberikan *PRP*.

4.2 Sampel

Besar sampel (n) untuk data berpasangan diperoleh dari rumus Federer sebagai berikut:

Besar sampel (n) untuk data berpasangan diperoleh dari rumus Federer sebagai berikut:

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

Dimana r adalah replikasi dan t adalah jumlah pengamatan atau intervensi,

sehingga:

$$r \geq \frac{15+t}{t}$$

$$r \geq \frac{15+2}{2}$$

r ≥ 8,5

Besar sampel replikasi adalah 9 pasien luka bakar yang dilakukan *micrografting* diberikan 2 tindakan, yaitu kelompok dengan luka *micrografting* pada separuh luasan diberikan *PRP* dan kelompok dengan luka *micrografting* separuh luasan lainnya tanpa *PRP*. Kemudian variabel histologis dinilai pada hari ke-5, variabel klinis

lainnya tanpa *PRP*. Kemudian variabel histologis dinilai pada hari ke-5, variabel klinis dinilai pada hari ke-5 dan 10 dan persentase *graft take* dinilai pada hari ke-10.

Seluruh pasien diperlakukan sesuai dengan aturan *Ethical Clearance Committee* RSUD Dr.Saiful Anwar Malang.

4.3 Kriteria Inklusi dan Eklusi

4.3.1 Kriteria Inklusi

Pasien luka bakar dengan *micrografting* yang dilibatkan dalam penelitian ini adalah pasien luka bakar yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

- Luka bakar derajat \geq II B dengan *row surface* \geq 10%
- Luka bakar yang disebabkan oleh air panas atau api
- Usia pasien $<$ 60 tahun

4.3.2 Kriteria Eklusi

Pasien luka bakar dengan *micrografting* yang tidak dilibatkan dalam penelitian ini adalah pasien luka bakar dengan salah satu kriteria sebagai berikut;

- Luka bakar meliputi area wajah
- Pasien dengan komorbid seperti Diabetes Mellitus

4.4 Variabel

4.4.1 Variabel Bebas

Pemberian Platelet Rich Plasma pada daerah resipien sebelum dilekatkan *graft*.

4.4.2 Variabel Tergantung

- Makrofag, fibroblas dan kolagen yang dinilai secara histopatologis
- Variabel klinis
- *Graft Take*

4.4.3 Variabel Kendali

- Derajat luka bakar : derajat luka bakar \geq II B
- Penyebab luka bakar: luka bakar yang disebabkan oleh air panas atau api
- Usia : <60 tahun
- Regio luka bakar (di luar area wajah)
- Penyakit Sistemik: Diabetes Mellitus

4.5 Definisi Operasional Variabel

4.5.1 Platelet Rich Plasma

Platelet Rich Plasma adalah konsentrat platelet yang diperoleh dari tepi pasien yang dicampur dengan ACD (*Anticoagulant Citrate Dextrose*) lalu ditambahkan dengan CaCl₂ 10% untuk mengaktifasi platelet (DeRossi *et al.*, 2009). Volume *PRP* yang dihasilkan sebanyak 10-20% dari volume darah tepi yang diambil. Satuan platelet dalam *PRP* 1 juta/ μ l, dengan volume *PRP* yang didapat antara 2-4ml. Untuk pembuatan *PRP* dilakukan di Laboratorium Sentral Rumah Sakit Umum Saiful Anwar.

4.5.2 Makrofag

Makrofag adalah diferensiasi monosit, berbentuk irregular, inti bulat dan berwarna kebiruan dengan granul hasil fagositosis berwarna kecoklatan sebagai pigmen eksogen didalam sitoplasma makrofag (Kiernan, 2008). Diperiksa secara histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dan 1000x, dengan satuan jumlah makrofag/ lapangan pandang, sebanyak 10 lapangan pandang.

4.5.3 Fibroblas

Fibroblas adalah sel dominan pada fase fibroblas, pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* merupakan sel besar, bercabang-cabang yang dari samping berbentuk pipih, dengan inti lonjong atau memanjang, kromatin halus , membentuk suatu garis sejajar dengan sitoplasma berwarna kemerahan pada pembesaran 400x dan 1000x (Kiernan, 2008). Pengukuran dengan satuan jumlah fibroblas/ lapangan pandang sebanyak 10 lapangan pandang.

4.5.4 Kepadatan kolagen

Kolagen adalah komponen utama dalam matriks ekstraselluler, diameter berasal berkisar $1-12\mu$. Pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* menunjukkan susunan serabut kolagen bergelombang dan berwarna merah muda cerah (Kiernan, 2008). Kepadatan kolagen yang berwarna kemerahan ini diukur di bawah mikroskop cahaya dengan pengukur *micrometer* pembesaran 400x dan 1000x, dengan satuan *micrometer*.

4.5.5 Penilaian Indikator Klinis (Wound Assessment Tool)

1. Tepi (*edges*), dengan skor:

(1) Indistinct, diffuse : tepi luka hampir tidak bisa di bedakan.

(2) Attached : rata atau sama dengan dasar luka

(3) Not attached : sisi atau dinding jelas, dasar luka lebih dalam daripada dinding luka.

(4) Rolled, thickened : lembut sampai padat dan fleksibel bila diraba.

(5) Hyperkeratosis : callus seperti formasi jaringan di sekitar luka dan di tepinya. Fibrotik/scar, hyperkeratosis, keras, kaku bila diraba.

2. Tipe eksudat

Sebelum memeriksa tipe eksudat, bersihkan perlahan-lahan luka dengan normal saline atau air.

Memilih tipe eksudat yang predominan pada luka menurut warna dan konsistensi, dengan skor:

(1) Tidak ada

(2) Darah : tipis, merah terang

(3) Serosanguineous : tipis, basah, merah pucat sampai merah muda

(4) Serous : tipis, basah, jernih

(5) Mukus/pus : tipis / tebal, coklat pucat sampai kekuningan.

Pus kotor

:tebal, kuning pucat sampai hijau dengan bau menyengat.

3. Jumlah eksudat

Menggunakan pengukur transparan dengan lingkaran konsentris terbagi menjadi

4 bagian kuadran (25%) untuk menentukan persentase dressing dengan eksudat,

dengan skor:

(1) Tidak ada : jaringan luka kering.

(2) Sedikit : jaringan luka lembab, eksudat minimal

(3) Kecil : jaringan luka basah, kelembapan merata pada jaringan luka, drainase $\leq 25\%$ keseluruhan.

(4) Sedang : jaringan luka basah, drainase dapat rata/tidak merata di jaringan luka, drainase $25\% - \leq 75\%$ keseluruhan.

(5) Besar : jaringan luka terendam cairan, drainase dimana-mana, terdistribusikan dengan rata/tidak rata pada jaringan luka, drainase $>75\%$ keseluruhan.

4. Jaringan granulasi

Jaringan ini sehat bila berwarna terang, merah segar seperti daging, mengkilat dan bergranal dengan permukaan seperti beludru. Semakin sedikit jaringan

granulasi tersisa, persentase *graft take* semakin besar.

Tidak ada granulasi

(1)

Merah muda atau pucat; $\leq 25\%$ dari luka terisi

(2)

Terang, merah segar; $<75\%$ dan $>25\%$ dari luka terisi

(3)

Terang, merah segar; 75-100% dari luka terisi

(4)

Permukaan kulit intak atau *partial thickness wound*

(5)

5. Epitelisasi

Pada luka *partial thickness* dapat terjadi jaringan luka atau cekungan dari tepi

luka. Pada luka *full thickness* jaringan luka hanya terjadi dari tepi luka.

Menggunakan pengukur transparan dengan lingkaran konsentris yang terbagi

menjadi 4 bagian kuadran (25%) untuk menentukan persentase luka dan

mengukur jarak epitelisasi yang menutupi luka, dengan skor:

(1) = 100% luka tertutup, permukaan intak

(2) = 75%-<100% luka tertutup dan atau epitelisasi $>0,5\text{cm}$ ke dalam luka

(3) = 50%-<75% luka tertutup dan atau epitelisasi $<0,5\text{cm}$ ke dalam luka

(4) = 25-<50% luka tertutup

(5) = <25% luka tertutup



Total skor dari 5 items dibagi menjadi 4 kategori

5-8 = minimal severity

9-12 = mild severity

13-16 = moderate severity

17-25 = extreme severity

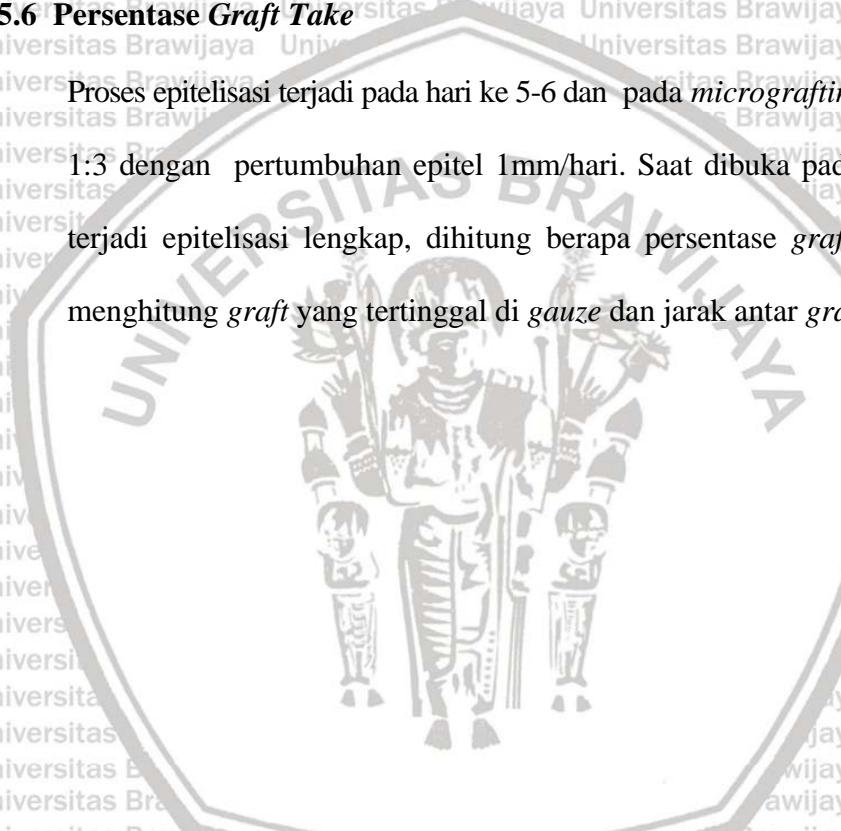
4.5.6 Persentase Graft Take

Proses epitelisasi terjadi pada hari ke 5-6 dan pada *micrografting* ini memakai ratio

1:3 dengan pertumbuhan epitel 1mm/hari. Saat dibuka pada hari ke 10, sudah

terjadi epitelisasi lengkap, dihitung berapa persentase *graft take*, dengan cara

menghitung *graft* yang tertinggal di *gauze* dan jarak antar *graft* (mm).



Item	Assessment	Date Score	Date Score
1. Edges	<p>1 = Indistinct, diffuse, none clearly visible 2 = Distinct, outline clearly visible, attached, even with wound base 3 = Well-defined, not attached to wound base 4 = Well-defined, not attached to base, rolled under, thickened 5 = Well-defined, fibrotic, scarred or hyperkeratotic</p>		
2. Exudate Type	<p>1 = None 2 = Bloody 3 = Serosanguineous: thin, watery, pale red/pink 4 = Serous: thin, watery, clear 5 = Purulent: thin or thick, opaque, tan/yellow, with or without odor</p>		
3. Exudate Amount	<p>1 = None, dry wound 2 = Scant, wound moist but no observable exudate 3 = Small 4 = Moderate 5 = Large</p>		
4. Granulation Tissue	<p>1 = No granulation tissue present 2 = Pink, &/or dull, dusky red &/or fills $\leq 25\%$ of wound 3 = Bright, beefy red; $< 75\%$ & $> 25\%$ of wound filled 4 = Bright, beefy red; 75% to 100% of wound filled &/or tissue overgrowth 5 = Skin intact or partial thickness wound</p>		
5. Epithelialization	<p>1 = 100% wound covered, surface intact 2 = 75% to $< 100\%$ wound covered &/or epithelial tissue extends $> 0.5\text{cm}$ into wound bed 3 = 50% to $< 75\%$ wound covered &/or epithelial tissue extends to $< 0.5\text{cm}$ into wound bed 4 = 25% to $< 50\%$ wound covered 5 = $< 25\%$ wound covered</p>		

4.6 Subjek Penelitian

- Dipilih 9 orang pasien luka bakar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan sudah mendapatkan *informed consent*.
- Dilakukan aspirasi 10-20 ml darah tepi kedalam tabung berisi 0,5-1 ml solusio antikoagulan *Anticoagulant Citrate Dextrose* (ACD). Darah tepi kemudian dipusingkan dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit dan diambil dua lapisan paling atas yaitu lapisan plasma dan *buffy coat*. Kedua lapisan ini dipusingkan lagi selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm.

Dipisahkan lapisan paling bawah berupa lapisan konsetrat platelet kaya plasma.

- Masing-masing pasien dilakukan tindakan *micrografting*.
- Konsentrat platelet dalam plasma diaktivasi dengan 0,1-0,2 ml CaCl_2 atau 1/10 dari *PRP* yang terbentuk sehingga terbentuk gel konsentrat platelet.
- Area resipien yang akan dilekatkan *graft* di separuh luasan diberikan *PRP* sebelum dilekatkan *graft*.
- Area resipien yang akan dilekatkan *graft* di separuh luasan lainnya, dilekatkan *graft* seperti biasa tanpa *PRP*.

- Masing-masing luka *micrografting* mendapat perawatan luka dengan menggunakan NaCl 0,9% dan antibiotik, kemudian ditutup dengan *transparent dressing* untuk pengkondisian luka dalam keadaan lembab yang merupakan kondisi ideal untuk penyembuhan luka dan mencegah kontaminasi ke area sekitarnya.
- Semua pasien diberikan injeksi antibiotik.

4.7 Prosedur Operasional Penelitian

Spesimen pada *micrografting* separuh luasan dengan *PRP* dan separuh luasan

lainnya yang tanpa *PRP* diambil pada waktu bersamaan.

Histologi

Spesimen diambil dari setiap luka dengan cara punch biopsi ukuran 6.

Spesimen diambil pada hari ke-5 (fase proliferasi). Spesimen dikirim ke bagian Patologi Anatomi untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi.

Pemeriksaan jumlah makrofag, jumlah fibroblas dan kepadatan kolagen dilakukan dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*. Preparat diletakkan dibawah mikroskop cahaya pada pembesaran 400x dan 1000x kemudian makrofag, fibroblas diukur menggunakan satuan jumlah dan kolagen diukur menggunakan pengukur *micrometer*.

Variabel klinis (*Wound Assessment Tools*)

Pada hari ke-5 dan 10, dilakukan penilaian indikator klinis untuk sisi perlakuan dan sisi kontrol, untuk menilai kecepatan dan tingkat keberhasilan penyembuhan luka.

Graft Take

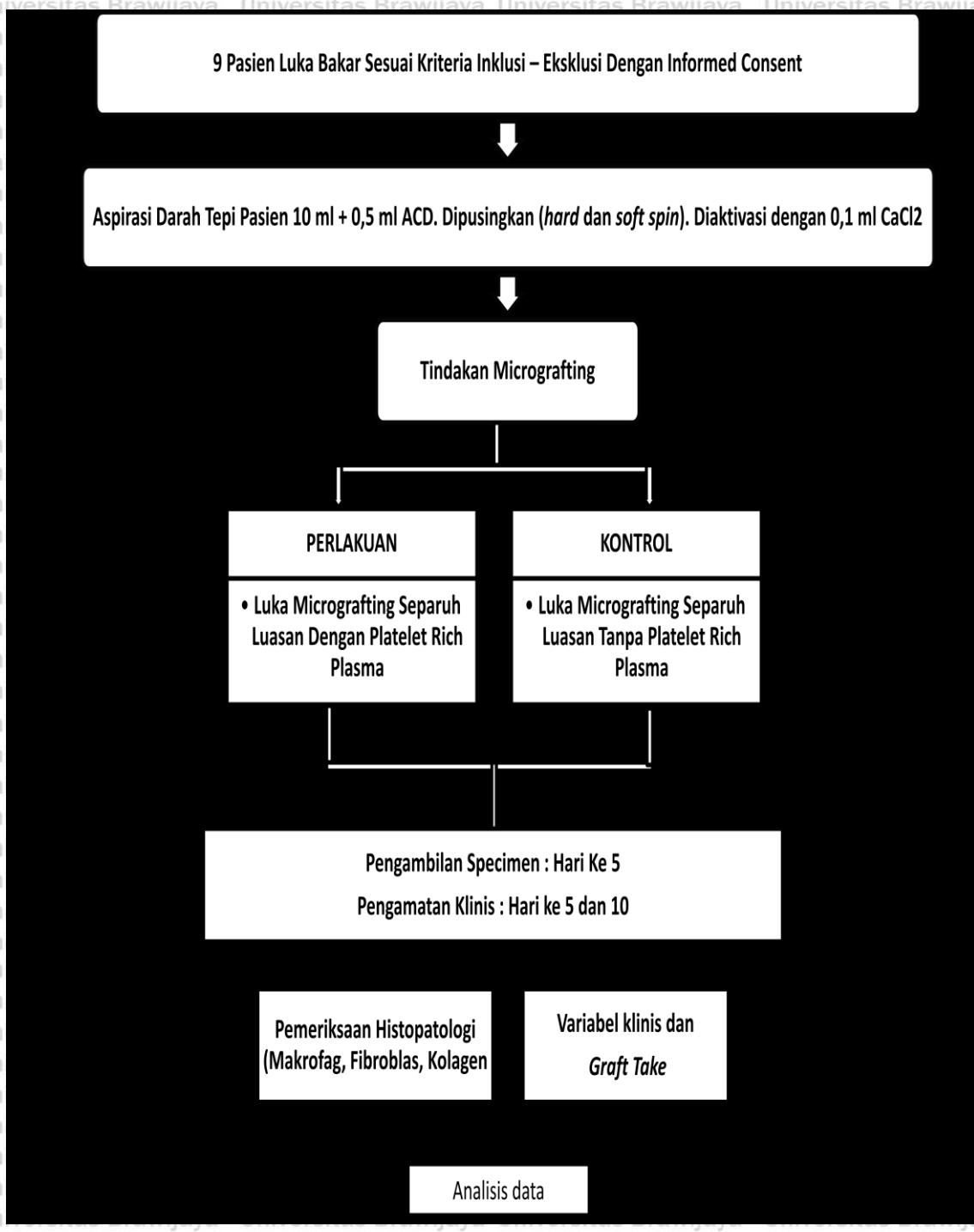
Penilaian persentase *graft take* dilakukan pada hari ke 10 untuk sisi perlakuan dan sisi kontrol untuk menilai kecepatan dan tingkat keberhasilan epitelisasi.

4.8 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di *Burn Care Unit* RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Pembuatan *Platelet Rich Plasma* dilakukan di Laboratorium Sentral RSUD Dr.Saiful Anwar, Malang. Pemeriksaan histopatologi specimen dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.



4.9 Kerangka Operasional Penelitian





4.10 Metode Analisis Data

Dalam penelitian ini, ada 2 metode pengujian hipotesis. Variabel makrofag, fibroblas, kolagen dan persentase *graft take* data nya berupa data parametrik, data numerik, sehingga perlu dianalisa awal dengan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji-t berpasangan (*paired t-test*) karena data yang digunakan berpasangan (berhubungan), dalam hal ini pasien luka bakar dengan *micrografting* (objek penelitian) dikenai 2 buah perlakuan yang berbeda, yaitu pasien luka bakar dengan *micrografting* pada separuh luasan diberikan *Platelet Rich Plasma* dan pada separuh luasan sisanya tidak diberikan *Platelet Rich Plasma*. Jadi dari pasien luka bakar dengan *micrografting* yang sama didapatkan 2 macam sampel data dengan taraf nyata/toleransi kesalahan sebesar 5% ($\alpha=0,05$). Sedangkan metode pengujian hipotesis yang dipakai untuk analisa variabel klinis adalah uji Wilcoxon karena data berupa kategori (non parametrik).

BAB 5**HASIL PENELITIAN**

Data untuk variabel makrofag, fibroblas, kolagen dan persentase *graft take* berupa data numerik. Dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk* dan diperoleh data penelitian berdistribusi normal. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1. Uji Normalitas Data Shapiro-Wilk

Parameter	Kelompok	Shapiro-Wilk	Signifikansi	Keterangan
Kolagen	NON PRP	0.889	0.194	Menyebar Normal
	PRP	0.927	0.452	Menyebar Normal
Fibroblas	NON PRP	0.952	0.712	Menyebar Normal
	PRP	0.916	0.361	Menyebar Normal
Makrofag	NON PRP	0.846	0.068	Menyebar Normal
	PRP	0.876	0.143	Menyebar Normal
<i>Graft Take</i>	NON PRP	0.913	0.338	Menyebar Normal
	PRP	0.913	0.338	Menyebar Normal

Selanjutnya masing-masing variabel dianalisis menggunakan uji *t* berpasangan (*paired t-test*). Sedangkan data untuk variabel klinis (*Wound Assessment Tools*) berupa data kategori (4 kategori: *minimal, mild, moderate* dan *extreme severity*) dianalisis menggunakan uji *Wilcoxon*.

5.1 Gambaran Histologis

Uji perbedaan dua rata-rata dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah makrofag, fibroblas, kepadatan kolagen antara kelompok luka kontrol (NON PRP) dan kelompok luka perlakuan (PRP) menggunakan uji t berpasangan.

Tabel 5.2 Perbandingan Banyaknya Makrofag, Fibroblas dan kepadatan kolagen antara Kelompok NON PRP dan PRP (Uji t-Berpasangan)

Rata-rata ± SD			
Kelompok	Makrofag	Fibroblas	Kolagen
NON PRP	$4,111 \pm 0,928$	$6,556 \pm 1,810$	$1,944 \pm 0,527$
PRP	$11,222 \pm 1,481$	$16,444 \pm 1,810$	$6,778 \pm 0,905$
t-berpasangan	-12,612	-9,828	-13,671
Signifikansi	0,000	0,000	0,000

1. Makrofag

Hasil uji t berpasangan pada kelompok NON PRP diperoleh rata-rata jumlah makrofag sebesar 4,111 dengan standar deviasi sebesar 0,928, sedangkan pada kelompok PRP diperoleh rata-rata jumlah makrofag sebesar 11,222 dengan standar deviasi sebesar 1,481, nilai t berpasangan sebesar -12,612 dengan signifikansi sebesar 0,000, di mana nilai signifikansi tersebut lebih kecil dari 0,05 ($0,000 < 0,05$) sehingga diputuskan H_0 ditolak; dan disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara rata-rata jumlah makrofag kelompok NON PRP dan kelompok PRP.

2 Fibroblas

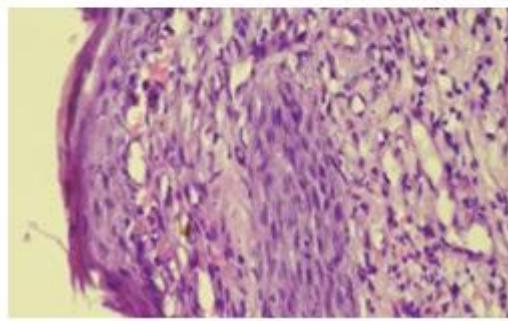
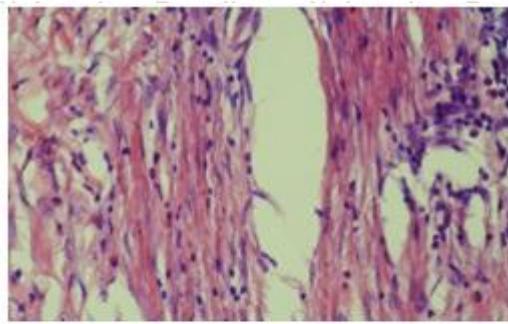
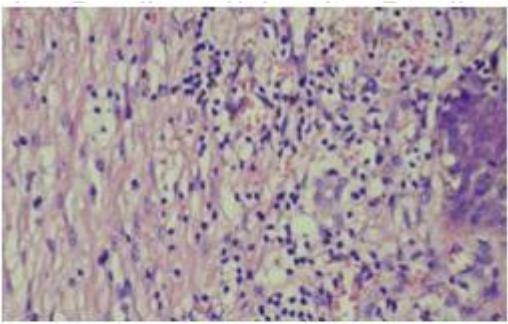
Hasil uji t berpasangan pada kelompok NON PRP diperoleh rata-rata jumlah fibroblas sebesar 6,556 dengan standar deviasi sebesar 1,810, sedangkan pada kelompok PRP diperoleh rata-rata jumlah fibroblas sebesar 16,444 dengan standar deviasi sebesar 1,810, nilai t berpasangan sebesar -9,828 dengan signifikansi sebesar 0,000, di mana nilai signifikansi tersebut lebih kecil dari 0,05 ($0,000 < 0,05$) sehingga diputuskan H_0 ditolak dan disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara rata-rata jumlah fibroblas kelompok NON PRP dan kelompok PRP.

3. Kolagen

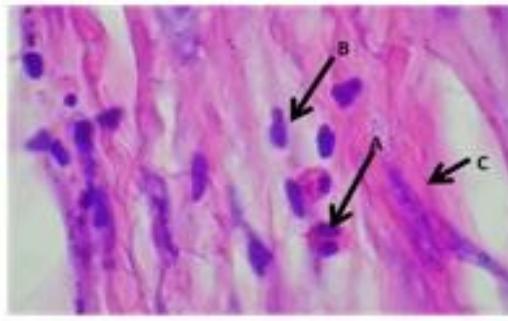
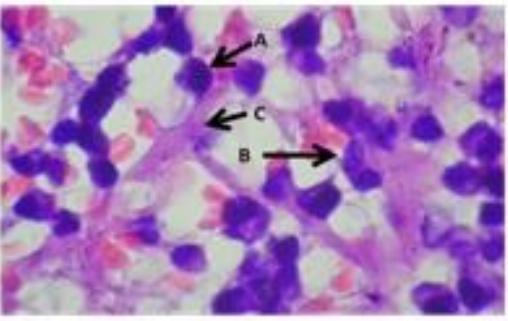
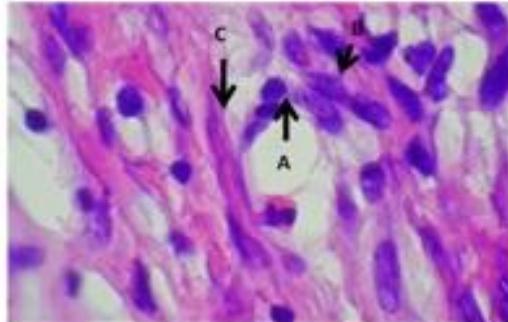
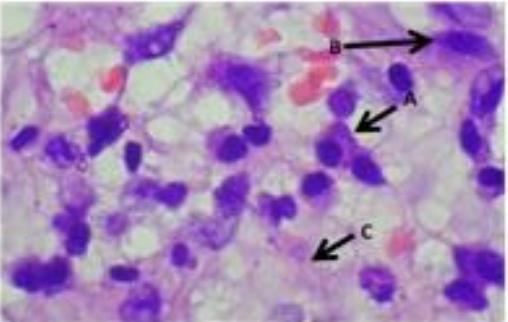
Hasil uji uji t berpasangan (dalam satuan *mikrometer*) pada kelompok NON PRP diperoleh rata-rata ketebalan kolagen sebesar 1,944 dengan standar deviasi sebesar 0,527 sedangkan pada kelompok PRP diperoleh rata-rata ketebalan kolagen sebesar 6,778 dengan standar deviasi sebesar 0,905, nilai t berpasangan sebesar -13,671 dengan signifikansi sebesar 0,000, di mana nilai signifikansi tersebut lebih kecil dari 0,05 ($0,000 < 0,05$) sehingga diputuskan H_0 ditolak dan disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara ketebalan kolagen kelompok NON PRP dan kelompok PRP.

Pada gambaran mikroskopik dengan pembesaran 400x dan 1000x didapatkan pada kelompok PRP fibroblas, makrofag lebih banyak daripada kelompok NON PRP. Demikian pula dengan ketebalan kolagen pada kelompok PRP lebih padat daripada kelompok NON PRP, ditunjukkan pada Gambar 7.

Pembesaran 400x



Pembesaran 1000x



Gambar 7. Gambaran histologis pengamatan hari ke-5, Keterangan: A: Makrofag ; B: Fibroblas; C: Kolagen.

5.2 Gambaran Klinis

Pengamatan luka klinis (*Wound Assessment Tool*) diamati secara makroskopis pada 2 kali pengamatan pada hari ke-5 dan ke-10. Indikator klinis yang diamati : tepi luka, tipe eksudat, jumlah eksudat, jaringan granulasi dan epitelisasi. Data berupa skala ordinal dan dimasukkan ke dalam 4 kategori: *minimal*, *mild*, *moderate* dan *extreme* *severity* kemudian dianalisis menggunakan uji *Wilcoxon*.

Perbandingan Klinis H5 dan H10 antara PRP dan NON PRP

Uji perbedaan dua rata-rata dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata nilai klinis H5 dan H10 antara kelompok luka perlakuan (NON PRP) dan kelompok luka kontrol (PRP) menggunakan uji *Wilcoxon*. Hasil uji *Wilcoxon* diperoleh pada Tabel

5.3 sebagai berikut:

Tabel 5.3 Perbandingan Nilai H5 dan H10 antara PRP dan NON PRP

Kelompok	H5				H10			
	Min	Mild	Moderate	Extreme	Min	Mild	Moderate	Extreme
PRP	0	6	3	0	9	0	0	0
NON PRP	0	1	8	0	5	4	0	0
Wilcoxon			-2,236				-2,000	
Signifikansi			0,025				0,046	

Pengamatan H5 pada kelompok PRP diperoleh sebanyak 6 pasien kategori *Mild Severity* dan 3 pasien kategori *Moderate Severity*. Sedangkan pada kelompok NON PRP diperoleh sebanyak 1 pasien kategori *Mild Severity* dan 8 pasien kategori *Moderate Severity*, diperoleh nilai Wilcoxon sebesar -2,236 dengan signifikansi sebesar 0,025, di mana nilai signifikansi tersebut lebih kecil dari 0,05 ($0,025 < 0,05$) sehingga diputuskan H_0 ditolak dan disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara rata-rata nilai klinis H5 kelompok PRP dan kelompok NON PRP.

Pengamatan H10 pada kelompok PRP diperoleh seluruh pengamatan kategori *Minimal Severity*. Sedangkan pada kelompok NON PRP diperoleh sebanyak 5 pasien kategori *Minimal Severity* dan 4 pengamatan kategori *Mild Severity*, diperoleh nilai Wilcoxon sebesar -2,000 dengan signifikansi sebesar 0,046, di mana nilai signifikansi tersebut lebih kecil dari 0,05 ($0,046 < 0,05$) sehingga diputuskan H_0 ditolak dan disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara rata-rata Nilai H10 kelompok PRP dan kelompok NON PRP.

Perbedaan dari kedua kelompok di atas menggambarkan pemberian *Platelet Rich Plasma* mempercepat proses epitelisasi karena degranulasi platelet menyebabkan pelepasan protein sekretori (*growth factors*) yang meningkatkan aktivasi makrofag dan fibroblas yang berperan dalam pembentukan kolagen sebagai komponen utama matriks ekstraselluler. Selanjutnya terjadi proses migrasi sel epidermal yang dimulai dari tepi luka ke jaringan ikat yang terbentuk (matriks ekstraselluler).

Pasien I

PRP

NON PRP



Klinis H5



Klinis H10



Gambar 8.. Gambaran klinis luka perlakuan (bokong kiri) dan luka kontrol (bokong kanan) pada hari ke-5 dan hari ke-10

Pasien II



Gambar 9. Gambaran klinis luka perlakuan (sisi kanan) dan luka kontrol (sisi kiri) pada hari ke-5,7 ,9.

Pada pengamatan hari ke-5 belum tampak epitelisasi pada tepi luka, di mana ukuran luka kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hampir sama (Gambar 8). Pada pengamatan hari ke-10, penilaian secara klinis pada kelompok perlakuan (PRP) tepi luka hampir sama (rata), granulasi lebih sedikit dan epitelisasi lebih luas sedangkan pada kelompok kontrol (NON PRP) tepi luka masih terlihat (ada gap), granulasi lebih banyak dan epitelisasi lebih sedikit (Gambar 8 dan 9). Baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan tidak didapatkan eksudat. Ukuran luka yang belum mengalami epitelisasi pada kelompok PRP lebih kecil dibandingkan dengan kelompok NON PRP. Tidak tampak adanya tanda infeksi pada kedua kelompok luka pada pengamatan hari ke-5 dan pengamatan hari ke-10.

5.3 Persentase Graft Take

Penilaian epitelisasi dan persentase *graft take* dilakukan pada hari ke 10. Pada kelompok luka perlakuan mengalami epithelialisasi lebih luas dan klinis luka yang lebih baik bila dibandingkan dengan kelompok luka kontrol sehingga kelompok luka perlakuan memiliki ukuran luka yang lebih kecil dibandingkan luka kontrol. Uji perbedaan dua rata-rata dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata nilai *Graft Take* antara kelompok luka perlakuan (PRP) dan kelompok luka kontrol (NON PRP) menggunakan uji t berpasangan. Hasil Uji t berpasangan diperoleh pada

Tabel 5.4 sebagai berikut :

Tabel 5.4 Perbandingan Nilai *Graft Take* antara PRP dan NON PRP

Parameter	Kelompok	Rata-rata ± SD	t Berpasangan	Signifikansi
<i>Graft Take</i>	PRP	82,222 ± 4,410	5,376	0,001
	NON PRP	72,778 ± 4,410		

Pada kelompok PRP diperoleh rata-rata nilai *Graft Take* sebesar 82,222 dengan standar deviasi sebesar 4,410 sedangkan pada kelompok NON PRP diperoleh rata-rata nilai *Graft Take* sebesar 72,778 dengan standar deviasi sebesar 4,410. Pada Tabel 5.4 diperoleh nilai t berpasangan sebesar 5,376 dan signifikansi sebesar 0,001, di mana nilai signifikansi tersebut lebih kecil dari 0,05 ($0,001 < 0,05$) sehingga diputuskan H_0 ditolak dan disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara rata-rata nilai *Graft Take* kelompok PRP dan kelompok NON PRP.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian topikal gel konsentrat platelet (*Platelet Rich Plasma*) terhadap penyembuhan luka *micrografting*. Penelitian menunjukkan bahwa aplikasi gel konsetrat platelet pada luka mampu memperpendek fase inflamasi dan menginisiasi fase proliferasi sehingga mempercepat proses epitelisasi dan penyembuhan luka. Hal ini dibuktikan dengan peningkatan jumlah makrofag pada awal luka dan penurunan jumlah makrofag secara signifikan sampai hari ke10, diikuti peningkatan kepadatan fibroblas sebagai tanda dimulainya fase proliferasi dimana fibroblas merupakan sel utama fase proliferasi, serta peningkatan ketebalan kolagen yang berperan sebagai struktur utama matriks ekstraseluler jaringan luka.

Jumlah makrofag pengamatan hari ke-5 pada kelompok luka perlakuan lebih banyak dibandingkan dengan kelompok luka kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa aplikasi gel konsentrat platelet pada luka akan mengakibatkan pelepasan protein sekretori antara lain PDGF dan TGF- β yang bersifat kemoaktran terhadap monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofag sehingga terjadi peningkatan jumlah makrofag (Anitua, 2004). Makrofag merupakan sel radang yang mendominasi fase inflamasi penyembuhan luka. Makrofag sendiri akan mensekresi *growth factors* yang berperan dalam mitogenesis fibroblas (Gurtner, 2007). Selanjutnya terjadi penurunan jumlah makrofag karena *growth factors* menginduksi influks sel fibroblas pada luka (Lorenz dan Longaker, 2006). Jumlah makrofag yang semakin berkurang pada kelompok luka perlakuan menunjukkan bahwa fase inflamasi mulai berhenti dan fase

proliferasi mulai berjalan yang berarti gel konsentrat platelet mampu memperpendek fase inflamasi dan mempercepat fase proliferasi.

Fibroblas akan semakin padat seiring penyembuhan luka. Walaupun kedua kelompok luka kontrol dan kelompok luka perlakuan mengalami peningkatan kepadatan fibroblas, jumlah fibroblas lebih padat pada kelompok luka perlakuan. Peningkatan kepadatan fibroblas dipengaruhi oleh protein sekretori platelet PDGF, TGF- β yang dihasilkan makrofag (Anitua dkk, 2004) dan peranan protein sekretori FGF sebagai hasil degranulasi platelet (Marx, 2004).

Kolagen lebih tebal pada kelompok luka perlakuan dibandingkan dengan kelompok luka kontrol. Aplikasi gel konsentrat platelet melepaskan *alpha granule* yang mengandung protein sekretori PDGF, TGF- β yang menempel pada membran sel target fibroblas yang berperan dalam sintesis kolagen (Anitua dkk, 2004). Fibroblas merupakan sel utama selama fase proliferasi, bersama dengan FGF memproduksi kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin dan glikoprotein yang menyediakan matriks ekstraseluler sebagai kerangka migrasi keratinosit untuk proses epitelisasi (Gurtner, 2007). Fibroblas yang lebih padat membantu pembentukan matriks ekstraseluler yang lebih padat. Matriks temporer secara bertahap akan digantikan oleh matriks ekstraseluler baru dengan kolagen sebagai strukturnya. Kolagen tipe III dibentuk pada hari ke 1-3 pasca trauma dan akan mencapai puncaknya pada minggu pertama. Kolagen tipe III ini akan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat saat proses penyembuhan luka memasuki fase *remodelling* yaitu sekitar minggu ketiga. Jaringan baru didaerah luka pada akhirnya akan didominasi oleh kolagen (Gurtner, 2007).

Penilaian secara klinis (*Wound Assessment Tool*) diamati secara makroskopis pada 2 kali pengamatan pada hari ke-5 dan ke-10. Penilaian berupa: tepi luka, tipe eksudat, jumlah eksudat, jaringan granulasi dan epitelialisasi. Pada pengamatan hari ke-5, belum tampak adanya epitelialisasi di tepi luka baik pada kelompok kontrol maupun kelompok kontrol dan luas luka pada kedua kelompok luka tampak hampir sama, tetapi penilaian secara klinis (indikator klinis) pada kelompok perlakuan (PRP) lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol (NON PRP).

Penilaian persentase *graft take* dilakukan pada hari ke 10, pada kelompok luka perlakuan mengalami epitelialisasi lebih cepat dan ukuran luka yang lebih kecil dibandingkan luka kontrol.

Pemberian topikal gel konsentrat platelet terhadap penyembuhan luka micrografting pada manusia ternyata memberikan hasil yang sama dengan hasil penelitian terdahulu (Saphira, 2012) di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr.Soetomo Surabaya, mengenai pengaruh pemberian topikal gel konsentrat platelet terhadap penyembuhan luka akut kulit kelinci dengan hasil pemberian topikal gel konsentrat platelet meningkatkan jumlah makrofag pada fase inflamasi, meningkatkan kepadatan fibroblas dan mempercepat sintesis kolagen pada fase proliferasi pada penyembuhan luka akut kulit kelinci. Manfaat klinis dari penelitian ini dapat diterapkan untuk prosedur *micrografting*, tindakan *graft* lainnya atau penyembuhan luka akut lainnya di RSUD Dr.Saiful Anwar Malang dengan tujuan proses penyembuhan luka lebih cepat terjadi dan hasil yang diperoleh lebih baik secara klinis dengan tingkat keberhasilan yang lebih tinggi.

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian topical gel konsetrat platelet meningkatkan banyaknya makrofag pada fase inflamasi penyembuhan luka *micrografting*.
2. Pemberian topical gel konsetrat platelet meningkatkan banyaknya fibroblas pada fase proliferasi penyembuhan luka *micrografting*.
3. Pemberian topical gel konsetrat platelet meningkatkan kepadatan kolagen pada fase proliferasi penyembuhan luka *micrografting*.
4. Pemberian topical gel konsetrat platelet terbukti secara klinis (*Wound Assessment Tool*) penyembuhan luka *micrografting* lebih optimal.
5. Pemberian topical gel konsetrat platelet terbukti mengoptimalkan epitelisasi dan keberhasilan *graft take*.

7.2 Saran

1. Direkomendasikan penggunaan gel konsentrat platelet pada tindakan *micrografting* untuk pasien-pasien di RSUD Dr.Saiful Anwar, Malang.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis faktor pertumbuhan mana (*Growth Factor*) yang berperan dalam proses inflamasi dan proliferasi.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian gel konsentrat platelet pada luka kronis.

BAB 7

PENUTUP

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson J.M. 2000. *The cellular cascades of wound healing*. In J. E. Davies (Ed.), *Bone Engineering*. Toronto: em squared inc. 81–93.
- Anitua E., Andia I., Ardanza B. 2004. *Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration*. *Thromb. Haemost.* 91: 4.
- Biswas A., Bharara M., Hurst C., Armstrong D.G., Rilo H. 2010. The Micrograft Concept for Wound Healing : Strategies and Applications. *J. of Diabetes Science and Technology*. 4:4.
- Baharestani M.M. 2007. *Quality of life and ethical issues*. In: Baranowski S, Ayello E (Eds.), *Wound Care Essentials: Practice Principles*. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins. 2–17.
- Banfi G., Corsi M.M., Volpi P. 2006. Could platelet rich plasma have systemic circulating growth factors and cytokine release in orthopaedic applications?. *Br J Sports Med.* 40(10):816.
- Bhanot S, Alex JC. 2002. *Current applications of platelet gels in facial plastic surgery*. *Facial Plast. Surg.* 18(1):27-33.
- Bielecki T.M., Gazdzik TS., Arendt J., Szczepanski T., Krol W., Wielkoszynski T. 2007. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *J Bone Joint Surg Br.* 89(3): 417-20.
- DeRossi R, Coelho A.C., Mello G.S. 2009. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cir Bras.* 24(4):276-81.
- DiPietro L.A. and Burns A.L., (Eds.). 2003. *Wound Healing: Methods and Protocols*. Methods in Molecular Medicine. Totowa, N.J. Humana Press. Electronic book.
- Eppley B.L., Woodell J.E., and Higgins J. 2004. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: Implications for wound healing. *J. Plast. Reconstr. Surg.* 114(6):1502-8.
- Everts PAM, Knape JTA, Weibrich G, Schönberger JPAM, Hoffmann JJHL, Overdevest EP, Box HAM, van Zundert A. 2006. Platelet rich plasma and platelet gel, A review. *J Extra Corpor Techn.* 38:174-187.
- Falanga V. 2004. The chronic wound: impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 32 (1): 88–94.

- Froum S.J., Wallace S.S., Tarnow D.P. 2002. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: Three bilateral case reports. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 22: 45.
- Ganio C., Tenewitz F.E., Wilson R. 1993. The treatment of chronic nonhealing wounds using autologous platelet-derived growth factors. *J. Foot Ankle Surg.* 32: 263.
- Gonshor A. 2002. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: Background and process. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 22: 547.
- Gurtner GC. 2007. *Wound healing, normal and abnormal*. In: Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL (Eds). *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 15-22.
- Guyton A.C. 2006. *Physiology of the Human Body*. 11th ed. Philadelphia: Saunders College Publishing.
- Hadjiiiski O. 2000. The Method of Micrografting in Treatment of Large Area Full-Thickness Burns. *Annals of Burns and Fire Disaster*. 13:3.
- Harrison P., and Cramer E.M. 1993. *Platelet alpha-granules*. *Blood Rev.* 7: 52.
- Henderson JL, Cupp CL, Ross EV, Shick PC, Keefe MA, Wester DC. 2003. The effects of autologous platelet gel on wound healing. *Ear Nose Throat J* 82(8):475-8, 598-602.
- Hermans R.P., Kreis R.W. 1997. Micrografting –Revival of an Old Technique. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 10:1.
- Kreis R.W., Mackie D.P., Hermans R.P. and Vloemans A.R.. 1994. Expansion techniques for skin grafts: Comparison between mesh and Meek island (sandwich-grafts). *J. Burns Supplement*. S40.
- Kevy S.V. and Jacobson M.S. 2004. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J. Extra Corpor. Technol.* 36: 28.
- Kiernan J.A. 2008. *Histological and histochemical methods: theory and practice*, 4th ed. Bloxham, UK: Scion.
- Knighton D.R., Fiegal V.D., Doucette M., Ciresi K., Butler E., Austin L. 1989. *The use of topically applied platelet growth factors in chronic nonhealing wounds: A review*. *Wounds* 1: 71.

- Knighton D.R., Ciresi K., Fiegal V.D., Butler E., Austin L. 1986. *Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF).* Ann Surg. 204(3): 322-30.
- Lacci K.M. and Dardik A. 2010. Platelet-Rich Plasma : Support for Its Use in Wound Healing. *Yale J.of biology and medicine.* 83: 1-9.
- Lui Y., Kalen A., Risto O. 2002. *Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent.* Wound Repair Regen. 10:336.
- Lidenboom JA, Mathura KR, Aartman IH, Kroon FH, Milstein DM, Ince C. 2007. *Influence of the application of platelet-enriched plasma in oral mucosal wound healing.* Clin. Oral Implants Res. 18(1):133-9.
- Lorentz H.P. and Longaker M.T. 2006. *Wound healing: repair biology and wound and scar treatment.* In: Mathes S.J. and Hentz V.R., (Eds). Plastic surgery. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 209-234.
- Lumenta D.B., Lars-Kamolz P., Frey M., 2009. Adult burn patients with more than 60% TBSA involved—meek and other techniques to overcome restricted skin harvest availability—The Viennese Concept. *J. Burn Care and Research.* 236.
- Macdonald J. M and Asiedu K. 2010. *WAWLC: World Alliance for Wound and Lymphedema Care.* Wounds. 22(3):55–59.
- Macdonald J.M and Geyer M.J. (Eds.). 2010. *Wound and lymphoedema management.* Switzerland: WHO Press.
- Man D., Plosker H. and Winland-Brown J.E. 2001. *The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery.* Plast. Reconstr. Surg. 107:229.
- Margolis D.J., Kantor J., Santanna J. 2001. *Effectiveness of platelet releasate for the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers.* Diabetes Care. 24: 483.
- Marx R.E. 2000. *Platelet concentrate: A strategy for accelerating and improving bone regeneration.* In J.E. Davies (Ed.), *Bone Engineering.* Toronto: University of Toronto. 447–453.
- Marx R.E. 2001. *Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP?* *Implant Dent.* 10: 225-8.
- Marx R. E. 2001 JO: The biology of platelet rich plasma (reply letter to the editor). *J. Oral Maxillofac. Surg.* 59:1119

- Marx R. E. 2004. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 62:489-496.
- Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M. 1998. *Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts.* Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 85; 638.
- Metha S., Watson JT. 2008. Platelet rich concentrate: basic science and current clinical application. *J Orthop Trauma.* 22(6):432-8
- Mishra A., Woodal J.Jr, Vieira A. 2009. *Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma.* Clin. Sports Med. 28(1):113-25
- Nikolidakis D., Jansen J.A. 2008. *The biology of platelet rich plasma and its application in oral surgery: literature review.* Tissue Eng Part B Rev. 14(3): 249-58.
- Peeters R, Hubens A. 1988. *The mesh skin graft.* Plast Reconstr Surg.34:287-92.
- Petrungaro P.S. 2001. *Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery.* Compend. Contin. Educ. Dent. 22: 729.
- Redler L.H. 2011. *Platelet-rich plasma therapy: a systematic literature review and evidence for clinical use.* Phys Sportsmed. 39(1):42-51.
- Steed D.L., Goslen J.B., Holloway G.A, Malone J.M, Bunt T.J., Webster M.W. 1992. *Randomized prospective double blind trial in healing chronic diabetic foot ulcers.* CT-102 activated platelet supernatant, topical versus placebo. Diabetes Care. 15(11):1598-1604.
- Schmitz JP, Hollinger JO. 2001: The biology of platelet rich plasma (letter to the editor). *J Oral Maxillofac. Surg.* 59:1119
- Tang Y.Q., Yeaman M.R., Selsted M.E. 2002. *Antimicrobial peptides from human platelets.* Infect immun. 70(12): 6542-33
- Wang, H.L. and Avila G. 2007. Platelet rich plasma: Myth or reality?. *Eur J. Dent.* 1(4): 192–194.
- Weibrich G., Kleis W.K., Hafner G. 2002. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J. Craniomaxillofac. Surg.* 30: 97.
- Weibrich G., Kleis W.K., Hafner G. 2001. Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, sex, and platelet count of the donor. *Int. J Oral Maxillofac. Implants.* 16(5):693-9.

- Welsh W.J. 2000. *Autologous platelet gel: Clinical function and usage in plastic surgery.* Cosmetic Derm. 11: 13.
- Zermani R.G.C., Zabarini A. and Trivisonno. 1997. Micrografting in Treatment of Severely Burned Patients. *Burns.* 23:78.
- Zimmermann R., Arnold D., Strasser E. 2003. *Sample preparation technique and white cell content influence the detectable levels of growth factors in platelet concentrates.* Vox Sang. 85: 283.
- Zucker-Franklin C. Megakaryocytes and platelets. 1998. In Zucker-Franklin D, Greaves MF, Grossi CE, Marmont AM (Eds). *Atlas of blood cells.* Lea & Febiger, Philadelphia: vol 2 (2nd Ed); 621.



Lampiran 1 : Hasil penghitungan jumlah makrofag, kepadatan fibroblas dan ketebalan kolagen

Sample	Kolagen		Fibroblas	Makrofag
	skala	micro meter		
A1	5	2,5	6	3
A2	4	2	9	4
A3	2	1	8	4
A4	5	2,5	7	6
A5	3	1,5	6	4
A6	5	2,5	3	3
A7	4	2	8	5
A8	3	1,5	7	4
A9	4	2	5	4
B1	13	6,5	17	11
B2	11	5,5	13	10
B3	13	6,5	19	13
B4	12	6	17	13
B5	12	6	15	11
B6	15	7,5	17	13
B7	14	7	15	10
B8	16	8	17	11
B9	16	8	18	9

Lampiran 2 : Hasil penilaian variabel klinis pada hari ke-5, hari ke-10 dan**persentase graft take pada hari ke-10**

Indikator Klinis (H5)	PRP									NON PRP								
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
Tepi (edges)	3	2	3	2	3	3	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Tipe eksudat	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	3	2	2	2	2
Jumlah eksudat	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2	3	3	3	2	3	3	3
Jaringan granulasi	2	2	3	2	2	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	3	3
Epitelisasi	2	2	3	3	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	11	10	14	11	11	12	13	12	13	12	14	14	14	15	13	14	13	14

Indikator Klinis (H10)	PRP									NON PRP								
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
Tepi (edges)	2	1	1	1	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2
Tipe eksudat	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
Jumlah eksudat	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1	1
Jaringan granulasi	1	1	2	1	1	1	1	2	1	2	1	1	2	2	1	2	1	1
Epitelisasi	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	7	6	7	6	7	6	7	7	7	8	9	7	9	8	7	10	7	7

persentase graft take	PRP									NON PRP									
	%	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
		85	90	80	80	75	80	85	85	80	75	75	70	70	70	75	65	80	75

Lampiran 3 : Hasil analisis statistik histologi pada pengamatan hari ke-5

Uji Normalitas Kolagen, Fibroblas dan Makrofag

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Skala a	.209	9	.200*	.889	9	.194
Skala b	.176	9	.200*	.927	9	.452
Micrometer a	.209	9	.200*	.889	9	.194
Micrometer b	.176	9	.200*	.927	9	.452
Fibroblas a	.157	9	.200*	.952	9	.712
Fibroblas b	.287	9	.031	.916	9	.361
Makrofag a	.325	9	.007	.846	9	.068
Makrofag b	.226	9	.200*	.876	9	.143

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji t berpasangan Kolagen, Fibroblas dan Makrofag

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Skala a	3.8889	9	1.05409	.35136
1	Skala b	13.5556	9	1.81046	.60349
Pair 2	Micrometer a	1.9444	9	.52705	.17568
2	Micrometer b	6.7778	9	.90523	.30174
Pair 3	Fibroblas a	6.5556	9	1.81046	.60349
3	Fibroblas b	16.4444	9	1.81046	.60349
Pair 4	Makrofag a	4.1111	9	.92796	.30932
4	Makrofag b	11.2222	9	1.48137	.49379

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)		
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
					Lower	Upper				
Pair 1	Skala a - Skala b	-9.66667	2.12132	.70711	-11.29726	-8.03608	-13.671	8	.000	
Pair 2	Micrometer a - Micrometer b	-4.83333	1.06066	.35355	-5.64863	-4.01804	-13.671	8	.000	
Pair 3	Fibroblas a - Fibroblas b	-9.88889	3.01846	1.00615	-12.20908	-7.56869	-9.828	8	.000	
Pair 4	Makrofag a - Makrofag b	-7.11111	1.69148	.56383	-8.41130	-5.81092	-12.612	8	.000	

Uji Normalitas Graft Take

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Graft Take PRP	.248	9	.116	.913	9	.338
Graft Take NON PRP	.248	9	.116	.913	9	.338

a. Lilliefors Significance Correction

Uji t berpasangan Graft Take

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Graft Take PRP	82.2222	9	4.40959	1.46986
	Graft Take NON PRP	72.7778	9	4.40959	1.46986

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)			
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference							
				Lower	Upper						
Pair 1	Graft Take PRP - Graft Take NON PRP	9.44444	5.27046	1.75682	5.39321	13.49568	5.376	8 .001			

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
Uji Wilcoxon Variabel Klinis
Frequencies
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

Statistics

	H5 PRP	H5 NON PRP	H10 PRP	H10 NON PRP
N	9	9	9	9
Valid				
Missing	0	0	0	0

Frequency Table**H5 PRP**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Mild Severity	6	66.7	66.7	66.7
	Moderate Severity	3	33.3	33.3	100.0
	Total	9	100.0	100.0	

H5 NON PRP

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Mild Severity	1	11.1	11.1	11.1
	Moderate Severity	8	88.9	88.9	100.0
	Total	9	100.0	100.0	

H10 PRP

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Minimal Severity	9	100.0	100.0	100.0

H10 NON PRP

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Minimal Severity	5	55,6	55,6	55,6
	Mild Severity	4	44,4	44,4	100,0
	Total	9	100,0	100,0	

Npar Tests**Wilcoxon Signed Ranks Test****Ranks**

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
H5 NON PRP - H5 PRP	Negative Ranks	0 ^a	,00	,00
	Positive Ranks	5 ^b	3,00	15,00
	Ties	4 ^c		
	Total	9		
H10 NON PRP - H10 PRP	Negative Ranks	0 ^d	,00	,00
	Positive Ranks	4 ^e	2,50	10,00
	Ties	5 ^f		
	Total	9		

- a. H5 NON PRP < H5 PRP
- b. H5 NON PRP > H5 PRP
- c. H5 NON PRP = H5 PRP
- d. H10 NON PRP < H10 PRP
- e. H10 NON PRP > H10 PRP
- f. H10 NON PRP = H10 PRP

Test Statistics^b

	H5 NON PRP - H5 PRP	H10 NON PRP - H10 PRP
Z	-2,236 ^a	-2,000 ^a
Asy mp. Sig. (2-tailed)	,025	,046

- a. Based on negative ranks.
- b. Wilcoxon Signed Ranks Test



1

Sepotong split thickness skin autograft



2

Menutup Cork Plate segi empat dengan sepotong split thickness skin autograft dengan sisi dermis sebelah bawah



3

Cork Plate diletakkan di **Meek cutting machine**



4

Graft dipotong menjadi 196 pleats segi empat



5

- Sisi dermis graft diberi perekat (spray) dan dibiarkan kering
- Cork Plate ditekan, graft side dibawah gauze, kemudian Cork Plate dilepas dari gauze



6

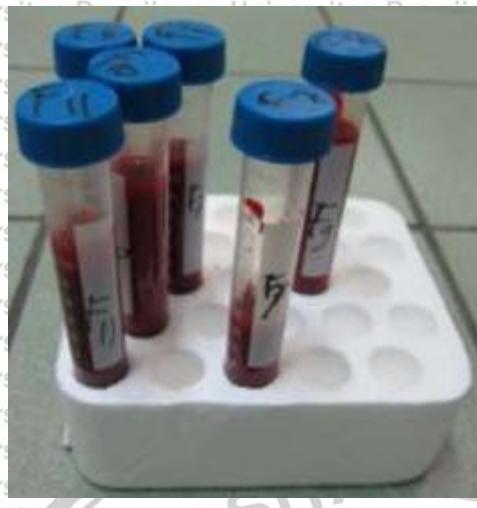
Pleats ditarik ke 4 arah



Luka yang akan ditutup graft, bokong kiri diberikan PRP (perlakuan), bokong kanan tanpa PRP (kontrol)



Gauze dan Graftnya dilekatkan pada resipien



Lampiran 5: Proses pembuatan gel konsentrat platelet

10 ml darah tepi yang telah diaspirasi dan dicampur dengan 0,5 ml *Anticoagulant Citrate Dextrose (ACD)*

Darah tepi dipusingkan (*hard spin*) selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm

Diperoleh tiga lapisan dari pemusingan pertama, dari atas ke bawah adalah lapisan plasma, *buffy coat* dan lapisan sel darah merah



Dua lapisan paling atas dipisahkan (lapisan plasma dan *buffy coat*) dan dipusingkan lagi selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm (*soft spin*)



Diperoleh dua lapisan



Lapisan paling bawah yang dipisahkan merupakan platelet dalam plasma



Konsentrat platelet dalam plasma diaktifasi dengan 1ml kalsium klorida (CaCl_2) menjadi gel konsentrat platelet



**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH
Dr SAIFUL ANWAR
Jl. Jaksa agung Suprapto No.2 Malang
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
TERAKREDITASI KARS VERSI 2012 TINGKAT PARIPURNA**



24 Februari 2015 s.d. 23 Februari 2018
Jl. Jaksa Agung Suprapto No.2 MALANG 65111
Telp. (0341) 362101, Fax. (0341) 369384
E-mail : staf-rsu-drsaifulanwar@jatimprov.go.id
Website : www.rsu-saifulanwar.jatimprov.go.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK

(**"ETHICAL CLEARANCE"**)

No: 400/ 70/K.3/302 /2015

**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN RSUD Dr SAIFUL ANWAR MALANG, SETELAH
MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN
INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN**

JUDUL : Platelet Rich Plasma Micrografting Mempercepat Penyembuhan Luka

PENELITI UTAMA: dr. Regine Viona

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN

RSUD Dr Saiful Anwar Malang

DINYATAKAN LAIK ETIK

MALANG, 13 AUG 2015

KETUA TIM KOMISI ETIK PENELITIAN

Dr. dr. Pudji Rahaju, Sp THT-KL (K)